



Pedro Miguel Lucas Franco

Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar
Licenciado em Tecnologia e Segurança Alimentar
Bacharel em Nutrição Humana

Características Físico-químicas, Propriedades Funcionais e Perfil de Compostos Fenólicos de 17 Variedades de Mações Portuguesas

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em
Qualidade Alimentar

Presidente: Doutora Maria Margarida Boavida Pontes Gonçalves,
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Luís Manuel Trabucho de Campos, Professor Catedrático da
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Arguente(s): Doutora Isabel Maria Pinto Leite Viegas Oliveira Ferreira, Professora
Associada com Agregação da Faculdade de Farmácia da Universidade do
Porto

Doutora Maria do Rosário Beja Figueiredo Gonzaga Bronze, Professora
Associada da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Benilde Simões Mendes, Professora Associada com Agregação
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Doutora Maria Margarida Boavida Pontes Gonçalves, Professora Auxiliar
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Doutora Ana Maria Ferreira da Silva Costa Freitas, Professora Associada
com Agregação da Universidade de Évora



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Julho 2014

Gostaria de dedicar este trabalho:

Aos meus pais, por terem construído a barca na
qual me fiz ao mar.

À Maki, por ter sido a minha timoneira.

À Maria, por ter partilhado comigo tantos sorrisos e, sem
saber, me ter incentivado a galgar as sucessivas vagas de
desesperança e exaustão.

Ao Jaime, por se ter mostrado um soldado dedicado na
defesa da família.

Aos meus irmãos e a todos os meus amigos, que continuaram
fiéis no vazio da minha ausência.

À Celina, que lembrava as minhas palavras de menino, mas
que a força do destino a levou antes de lhe poder mostrar
estas que aqui deixo.

Características Físico-químicas, Propriedades Funcionais e Perfil de Compostos Fenólicos de 17 Variedades de Maças Portuguesas

Copyright Pedro Miguel Lucas Franco, FCT/UNL e UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Deixo um agradecimento muito especial e sentido à Professora Doutora Maria Margarida Gonçalves, orientadora desta tese, pelo seu apoio, incentivo e dedicação, pela sua infinita disponibilidade e pela revisão do documento final. Não esquecerei o esforço extraordinário que empreendeu, abdicando de muito do seu tempo em família, para adequar o seu horário aos meus condicionalismos profissionais, nomeadamente nos consecutivos fins-de-semana que durante cerca de dois anos cedeu a este projeto. Guardarei para sempre a sua sábia orientação e amizade.

À Professora Doutora Benilde Simões Mendes, Presidente do Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa (DCTB), por ter disponibilizado todos recursos e meios necessários, por vezes em circunstâncias de grandes condicionalismos económicos. Gostaria ainda de ressaltar o enorme encorajamento, otimismo e amizade que tem oferecido à minha causa académica ao longo dos últimos dez anos.

À Professora Doutora Ana Luísa Fernandes e à Professora Doutora Paula Duarte pelos esclarecimentos que dispensaram e por todas as palavras de conforto e de apoio.

À D. Rita Braga, técnica laboratorial, pelo apoio prestado em algumas determinações analíticas e à D. Lurdes Carvalho, secretária do DCTB, por ter assegurado a receção de algumas amostras e por ter correspondido sempre com toda a disponibilidade a todas as solicitações que lhe enderecei.

Aos Srs. António Marques e Tiago Cagica, e ao Sr. Vereador da Administração e Finanças, Desporto, Juventude e Atividades Económicas, da Câmara Municipal de Sesimbra, José Polido, pela informação prestada sobre as maçãs tradicionais da região de Sesimbra.

A todas as pessoas e organizações que participaram na cedência das amostras de maçãs, nomeadamente ao Enf.º Ricardo Santos e ao Sr. António Maria dos Santos (variedades *Camoesa da Azoia* ou *Férrea*, *Maçã Branca* e *Maçã Cunha*); ao Eng.º Gomes Pereira, da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro (DRAPC), Ministério da Agricultura, (variedades Casa Nova de Alcobaça e Maçã Espelho); À Eng.ª Arminda Lopes e ao Eng.º José Santos, da Divisão de Produção Agrícola e Pescas da DRAPC (variedades Pardo Lindo, Querina, Pipo de Basto e Maçã Verdeal); ao Eng.º Augusto Assunção, da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte (variedade Porta da Loja); e ao Eng.º António Baptista e à empresa Luís Vicente S.A., pela cedência das amostras das variedades Bravo de Esmolfe, Reineta Parda, Royal Gala, Starking, Jonagold, Golden e Fuji.

À Dra. Raquel Izquierdo de Santiago, da World Apple and Pear Association (WAPA), da Bélgica, pela cedência de dados a respeito da produção europeia de maçãs.

Ao Professor Doutor Shahrokh Khanizadeh, do Horticulture Research and Development Centre, do Canadá, pelos inúmeros esclarecimentos relativos às variedades Reineta.

À Professora Doutora Maja Mikulič Petkovšek, da Biotechnical Faculty, Agronomy Department, University of Ljubljana, da Eslovénia, pelos comentários relacionados com a agricultura biológica e convencional.

Aos Professores Doutores Olivier Dangles, da Université d'Avignon (França), responsável pela equipa 'Chimie des Antioxydants', Maria Cármen Gómez-Guillén, do Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición do Instituto del Frío-ICTAN, de Espanha, e Véronique Cheynier, INRA-Unité Mixte de Recherche sciences Pour L'Œnologie, da França, por todos os esclarecimentos a respeito dos polifenóis e da sua atividade antioxidante.

À Maki, por ter sabido gerir a minha ausência e por ter acumulado a função de pai em muitos momentos. Não há palavras que expressem o meu enorme e fiel agradecimento por todo o seu apoio, mesmo em ocasiões em que o *stress* fez resvalar o meu humor. Agradeço a disponibilidade que demonstrou em todos os momentos, desde a colheita de amostras, aos trabalhos no laboratório e às inúmeras sugestões. Admiro a sua inextinguível paciência, dedicação e confiança.

Aos meus pais, que foram, sem sombra de dúvida, os principais motores na base deste trabalho. Nem os anos longos das suas vidas, a tombarem já para os 80, lhes roubaram a lucidez para continuarem firmes no encorajamento verdadeiramente incondicional, e imprescindível, que empregaram em cada momento dos 25 anos de estudos que a minha carreira académica já comporta. Sou realmente grato a Deus por ter a sorte de conviver, de facto, com os melhores pais do mundo!

À Maria, que nasceu e cresceu durante esta viagem, e que inacreditavelmente sempre soube resguardar a minha necessária privacidade para que a leitura, os cálculos e a escrita fossem possíveis. Espero poder retribuir em dobro, assim que este navio atracar!

Ao Jaime por ter partilhado muitos dos momentos com a sua irmã, que me caberiam a mim, permitindo que eu encontrasse o espaço necessário para empreender a minha jornada.

A todas estas pessoas, e a todas quanto de alguma forma contribuíram para este trabalho, o meu reconhecido agradecimento.

RESUMO

A maçã é um dos frutos mais apreciados e acessíveis em todo o mundo. Apesar da sua grande disseminação, mais de 90% da produção ocorre no hemisfério norte. Portugal reúne um conjunto de características climáticas privilegiadas para a produção de maçãs e, embora a exploração intensiva se resuma a um punhado de variedades exóticas, conserva ainda inúmeras variedades tradicionais e regionais que, apesar de pouco exploradas comercialmente, revelam particularidades sensoriais e constituintes funcionais que as distinguem das variedades com maior índice de comercialização.

Pese embora se reconheça a existência de inúmeros estudos científicos que têm avaliado as propriedades funcionais das maçãs, sobretudo de variedades exóticas, são em número muito mais restrito aqueles que se têm debruçado sobre variedades tradicionais.

Este trabalho pretendeu dar um contributo nesse sentido, apresentando dados relativos às características físico-químicas, propriedades funcionais e perfil de compostos fenólicos de 11 variedades tradicionais de maçãs portuguesas (*Porta da Loja*, *Pardo Lindo*, *Maçã Verdeal*, *Querina*, *Pipo de Basto*, *Casa Nova de Alcobaça*, *Maçã Espelho*, *Bravo de Esmolfe*, *Camoesa da Azoia*, *Maçã Cunha* e *Maçã Branca*), estabelecendo a comparação com 6 variedades exóticas com grande implantação no circuito comercial (*Reineta Parda*, *Royal Gala*, *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious* e *Fuji*).

Os resultados mostram que a casca das maçãs possui uma quantidade de fenólicos, entre 2,1 e 4,0 vezes, mais elevado do que a polpa. Por outro lado, as variedades tradicionais evidenciaram um teor médio de fenólicos mais elevado do que as variedades exóticas, com exceção da variedade *Reineta Parda*, que mostrou estar mais relacionada com as cultivares tradicionais do que com as exóticas. O teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) apurado variou entre $35,51 \pm 42,67$ (*Royal Gala*) e $179,30 \pm 0,29$ mg GAE/100 g PF (*Pardo Lindo*), na polpa e entre $155,83 \pm 4,98$ (*Maçã Verdeal*) e $495,35 \pm 8,17$ mg GAE/100 g PF (*Reineta Parda*), na casca.

A atividade antioxidante, determinada pelos métodos FRAP e DPPH, mostrou estar forte e significativamente correlacionada com o teor de fenólicos, revelando ser mais elevada na casca – FRAP: entre $140,04 \pm 11,55$ (*Maçã Verdeal*) e $472,61 \pm 7,51$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF; DPPH: entre $190,92 \pm 4,12$ (*Royal Gala*) e $422,64 \pm 2,38$ (*Reineta Parda*) mg GAE/100 g PF – do que na polpa – FRAP: entre $53,80 \pm 0,81$ (*Royal Gala*) e $199,50 \pm 11,43$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF; DPPH: entre $47,27 \pm 0,17$ (*Bravo de Esmolfe*) e $105,75 \pm 0,22$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF.

Os flavanóis mostraram ser os compostos que mais contribuem para o teor de fenólicos e para a atividade antioxidante, seguido por ácidos hidroxibenzóicos, flavonóis, dihidrochalconas, ácidos

hidroxicinâmicos e antocianinas. Os carotenóides, os açúcares e a acidez titulável, por seu lado, revelaram uma correlação positiva, mas fraca, e as fibras uma associação negativa com esta propriedade. Os compostos minerais, com exceção do zinco, não mostraram estar correlacionados com a atividade antioxidante.

As variedades tradicionais *Pardo Lindo*, *Maçã Branca*, *Bravo de Esmolfe*, *Porta da Loja*, *Camoesa da Azoia* e *Casa Nova de Alcobaça*, e a cultivar exótica *Reineta Parda*, destacaram-se das restantes variedades analisadas, sobretudo relativamente às cultivares exóticas *Royal Gala*, *Jonagold* e *Golden Delicious*, por demonstrarem teores de fenólicos e atividades antioxidantes mais elevados.

Os compostos fenólicos mais abundantes, tanto na casca como na polpa das maçãs estudadas, foram o ácido clorogénico, a (–)-epicatequina e a procianidina B2, embora outros componentes fenólicos tenham mostrado particular relevância em algumas variedades.

Os dados aqui apresentados permitem concluir que Portugal possui um conjunto de variedades tradicionais com características funcionais mais relevantes do que aquelas que ocorrem nas variedades exóticas, com maior volume de vendas. Este conhecimento poderá ser utilizado para diversificar os estudos envolvendo outras variedades tradicionais, não só na perspetiva de encontrar características funcionais ainda mais relevantes, mas também no sentido de promover a proteção da grande diversidade de macieiras existentes em Portugal. Seria igualmente de grande importância avaliar as ações antimicrobiológica e antimutagénica de algumas maçãs tradicionais, bem como, numa vertente mais tecnológica, desenvolver ingredientes para a indústria alimentar a partir dos resíduos da indústria de produção de sumos.

Palavras-chave: Polifenóis; Fenólicos; Carotenóides; Minerais; Fósforo, Azoto, Fibra, Açúcares; Acidez Titulável; Folin-Ciocalteu; HPLC; FRAP; DPPH.

ABSTRACT

Apple is one of the most appreciated and accessible fruits in the world. Despite of its great dissemination, over than 90% of the production takes place in the northern hemisphere. Portugal gathers a group of privileged climacteric characteristics for apple production and, even though the intensive exploration resumes itself to a handful of exotic varieties, still preserves a wide number of traditional and regional varieties that, although little commercially explored, reveal sensory particularities and functional constituents with a higher commercialised index.

Even though it is recognised that a vast number of scientific studies have been evaluating the apple functional properties, especially exotic cultivars, there are much less studies centred on traditional cultivars.

This work aimed to contribute in that direction, presenting data related to the physical and chemical characteristics, functional properties and phenolic compounds profile of 11 traditional varieties of Portuguese apples (*Porta da Loja*, *Pardo Lindo*, *Maçã Verdeal*, *Querina*, *Pipo de Basto*, *Casa Nova de Alcobaça*, *Maçã Espelho*, *Bravo de Esmolfe*, *Camoesa da Azoia*, *Maçã Cunha e Maçã Branca*), establishing the comparison with 6 exotic cultivars with a high implantation rate in the commercial circuit (*Reineta Parda*, *Royal Gala*, *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious e Fuji*).

The results show that apple skin holds a higher amount of phenolics, between 2.1 and 4.0 times higher than the flesh. On the other hand, traditional varieties exhibit on average a higher phenolic content than the exotic cultivars, excepts for the Reineta Parda that showed to be more related with the traditional varieties than with the exotic ones. The phenolic content (Folin-Ciocalte) varied from $35,51 \pm 42,67$ (*Royal Gala*) and $179,30 \pm 0,29$ mg GAE/100 g of fresh weight (*Pardo Lindo*), in the flesh, and between $155,83 \pm 4,98$ (*Maçã Verdeal*) and $495,35 \pm 8,17$ mg GAE/100 g of fresh weight (*Reineta Parda*), in the skin.

The antioxidant activity (determined by FRAP and DPPH methods) showed to be strong and significantly correlated with the phenolic content, and higher in the skin (FRAP: between $140,04 \pm 11,55$ (*Maçã Verdeal*) and $472,61 \pm 7,51$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g of fresh weight; DPPH: between $190,92 \pm 4,12$ (*Royal Gala*) and $422,64 \pm 2,38$ (*Reineta Parda*) mg GAE/100 g of fresh weight) than in the flesh (FRAP: between $53,80 \pm 0,81$ (*Royal Gala*) and $199,50 \pm 11,43$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g of fresh weight; DPPH: between $47,27 \pm 0,17$ (*Bravo de Esmolfe*) and $105,75 \pm 0,22$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g of fresh weight).

Flavanols showed to be the compounds that most contribute for the phenolic content and for the antioxidant activity, followed by hydroxybenzoic acids, flavonols, dihydrochalcones, hydrocycinnamic acids and anthocyanins. On the other hand, while carotenóides, sugars and

titrable acidity revealed a positive, but weak, correlation, fibres content exhibit a negative association with that property. Mineral compounds, except zinc, were not correlated with the antioxidant activity.

Traditional cultivars Pardo Lindo, Maçã Branca, Bravo de Esmolfe, Porta da Loja, Camoesa da Azoia and Casa Nova de Alcobaça, and the exotic cultivar Reineta Parda, stood out from the rest of the varieties analysed mainly when compared to the exotic cultivars Royal Gala, Jonagold and Golden Delicious, as they exhibited higher phenolic content and stronger antioxidant activity.

Clorogenic acid, (–)-epicatechin and procyanidin B2 were the most abundant compounds found in the apples studied, both in the flesh and skin, even though some other phenolic compounds showed particular relevancy for some cultivars.

The data herein allows the conclusion that Portugal holds a set of traditional cultivars with functional characteristics that are more relevant than the ones that occur in the exotic varieties, which have a higher trade volume. This knowledge might be used to diversify the studies involving other traditional varieties, not only in the perspective of finding even more relevant functional characteristics, but also with the aim of promoting the protection of the great diversity of apple trees that Portugal still preserves.

Palavras-chave: Polifenóis; Fenólicos; Carotenóides; Minerais; Fósforo, Azoto, Fibra, Açúcares; Acidez Titulável; Folin-Ciocalteu; HPLC; FRAP; DPPH.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AEAC	Atividade Antioxidante Equivalente ao Ácido Ascórbico
Al	Alumínio
BHT	Butil-hidroxitolueno (E321)
Ca	Cálcio
CAE	Equivalentes de Ácido Clorogénico
CE	Equivalentes de Catequina
CEAC	Atividade Antioxidante Equivalentes de Catequina
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
FC	Folin-Ciocalteu
Fe	Ferro
FRAP	Capacidade Redutora Férrica
GAE	Equivalentes de Ácido Gálico
HDL	High-density lipoprotein (lipoproteínas de alta densidade)
K	Potássio
LDL	Low-density lipoprotein (lipoproteínas de baixa densidade)
Mg	Magnésio
MIC₅₀	Concentração Mínima Inibitória que inibe 50% do crescimento
Mn	Manganês
Mo	Molibdénio
Na	Sódio
Ni	Níquel
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico
PF	Peso Fresco
QE	Equivalentes de Quercetina
TEAC	Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox
TFT	Teor de Fenólicos Totais
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina
VCE	Equivalentes de Vitamina C
VCEAC	Atividade Antioxidante Equivalente à Vitamina C
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade
WCRF/AICR	Fundo Mundial para a Investigação do Cancro (WCRF)/Instituto Americano para a Investigação do Cancro (AIRC)
Zn	Zinco

ÍNDICE

1.CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1.1. Perspetiva histórica.....	3
1.1.2. Produção e consumo de maçãs	4
1.1.3. Uso de pesticidas.....	8
1.1.4. Composição química da maçã	10
1.1.4.1. Composição de polifenóis de maçãs	11
1.1.4.2. Biodisponibilidade dos polifenóis	15
1.1.5. Processos de oxidação.....	17
1.1.6. Propriedades bioativas das maçãs.....	18
1.1.6.1. Carotenóides.....	20
1.1.6.2. Atividade antioxidante	20
1.1.6.2.1. Antioxidantes sintéticos	22
1.1.6.3. Atividade antimutagénica e antiproliferativa	22
1.1.6.4. Atividade anti-inflamatória.....	25
1.1.6.5. Atividade antimicrobiana	25
1.2. OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE	27
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
 2.CAPÍTULO 2. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS	 45
2.1. INTRODUÇÃO.....	46
2.1.1. Teor de água.....	46
2.1.2. Composição mineral	46
2.1.3. Teor de acidez da maçã	48
2.1.4. Açúcares (açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores)	49
2.1.5. Rácio açúcares/acidez.....	51
2.1.6. Fibra dietética	52
2.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	54
2.2.1. Materiais	54
2.2.2. Variedades de maçãs selecionadas	54
2.2.3. Preparação das amostras.....	57
2.2.4. Peso dos frutos e relação polpa/casca.....	57
2.2.5. Teor de água.....	58
2.2.6. Teor de cinzas	58
2.2.7. Composição mineral	59
2.2.8. Azoto total	59
2.2.9. Fósforo total	60
2.2.10. Acidez titulável	61
2.2.11. Açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais	62

2.2.12. Fibra total	64
2.2.13. Análise estatística	64
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
2.3.1. Peso dos frutos e relação polpa/casca.....	66
2.3.2. Teor de água.....	67
2.3.3. Teor de cinzas	72
2.3.4. Composição mineral	72
2.3.5. Azoto	74
2.3.6. Fósforo.....	79
2.3.7. Açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores	82
2.3.8. Acidez titulável	84
2.3.9. Rácio açúcares/acidez.....	85
2.3.10. Fibra total	88
2.4. CONCLUSÕES	91
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
3. CAPÍTULO 3. PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	101
3.1. INTRODUÇÃO.....	102
3.1.1. Fenólicos totais	102
3.1.2. Carotenóides totais	106
3.1.3. Atividade antioxidante.....	108
3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	112
3.2.1. Materiais	112
3.2.2. Otimização dos métodos de extração de compostos fenólicos	112
3.2.3. Procedimento de extração	113
3.2.4. Teor de Fenólicos totais (Folin-Ciocalteu).....	114
3.2.5. Carotenóides totais	114
3.2.6. Atividade antioxidante.....	115
3.2.6.1. DPPH	115
3.2.6.2. FRAP.....	116
3.2.7. Análise estatística	117
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	118
3.3.1. Testes preliminares.....	118
3.3.2. Teor de fenólicos totais.....	121
3.3.3. Carotenóides totais	123
3.3.4. Atividade antioxidante.....	126
3.3.4.1. DPPH	126
3.3.4.2. FRAP.....	129
3.4. CONCLUSÕES	132
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134

4. CAPÍTULO 4. PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC-DAD	143
4.1. INTRODUÇÃO.....	144
4.1.1. Perfis e quantificação de fenólicos	144
4.1.1.1. Flavonóides presentes nas maçãs	147
4.1.1.2. Métodos analíticos	148
4.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	151
4.2.1. Materiais	151
4.2.2. Perfil de fenólicos e sua quantificação por HPLC-DAD.....	151
4.2.2.1. Preparação das soluções-padrão	153
4.2.2.2. Seleção dos compostos fenólicos a identificar	156
4.2.3. Quantificação dos compostos fenólicos individuais	157
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	158
4.3.1. Perfil de fenólicos por HPLC-DAD	158
4.3.2. Quantificação de fenólicos por HPLC-DAD	174
4.4. CONCLUSÕES	201
4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	203
5. CAPÍTULO 5. DISCUSSÃO GERAL E CORRELAÇÕES.....	209
5.1. INTRODUÇÃO.....	210
5.2. DISCUSSÃO GERAL E CORRELAÇÕES	213
5.2.1. Análise estatística	213
5.2.2. Coeficientes de correlação de Pearson	213
5.2.2.1. Cinzas e minerais.....	213
5.2.2.2. Fósforo	216
5.2.2.3. Azoto	216
5.2.2.4. Fibras	217
5.2.2.5. Açúcares	218
5.2.2.6. Acidez titulável	218
5.2.2.7. Rácio açúcares/acidez.....	219
5.2.2.8. Atividade nutracêutica.....	219
5.2.2.8.1. Classes de fenólicos	219
5.2.2.8.2. Carotenóides totais	224
5.2.2.8.3. Perfil de fenólicos e atividade antioxidante.....	225
5.2.2.8.4. Variedades exóticas vs variedades tradicionais	233
5.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	246
6. CAPÍTULO 6. CONCLUSÕES FINAIS	251
6.1. CONCLUSÕES FINAIS.....	252
6.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	254
6.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	256

I.ANEXO I. PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM MAÇÃS – RECOLHA BIBLIOGRÁFICA	259
II.ANEXO II. CORRELAÇÕES DE PEARSON ENTRE O TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS, CINZAS E MINERAIS DE VARIEDADES EXÓTICAS E TRADICIONAIS	289
III.ANEXO II. CORRELAÇÕES DE PEARSON ENTRE AS DIVERSAS CLASSES DE FENÓLICOS E O TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	293

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Corredor de Gansu (China) e principais rotas migratórias de maçãs para o ocidente.	4
Figura 1.2. Produção de maçãs em Portugal entre 1961 e 2010 (FAOSTAT, 2012).	5
Figura 1.3. Produção mundial de maçãs por regiões do Globo e China (1961 a 2010) (FAOSTAT, 2012).	5
Figura 1.4. Consumo de frutos <i>per capita</i> (kg/hab./ano) por espécie frutícola em Portugal (1990 a 2012). Dados de 2010/2011 provisórios (INE, 2012).	8
Figura 1.5. Representação esquemática simplificada dos componentes mais importantes das maçãs (adaptado de Lozano, 2006).	11
Figura 1.6. Classificação dos fitoquímicos da dieta (adaptado de Liu, 2004).	12
Figura 2.1. Azoto total em polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de Portugal.	75
Figura 2.2. Fósforo total em polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de Portugal.	80
Figura 2.3. Teor de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais de 17 variedades de maçãs de Portugal.	82
Figura 2.4. Teor de fibra de 17 variedades de maçãs de Portugal.	89
Figura 3.1. Concentração de fenólicos totais em 11 frutos (Folin-Ciocalteu) (Sun <i>et al.</i> , 2002).	102
Figura 3.2. Atividade antioxidante de 11 frutos (TOSC - <i>Total Oxidant Scavenging Capacity</i>) (Sun <i>et al.</i> , 2002).	108
Figura 3.3. Sequestração do radical DPPH por um antioxidante (adaptado de Yamaguchi <i>et al.</i> , 1998).	116
Figura 3.4. Reação do teste FRAP (adaptado de Prior <i>et al.</i> , 2005).	117
Figura 3.5. Efeito da natureza do solvente de extração no teor de compostos fenólicos totais de maçãs da variedade <i>Royal Gala</i> .	118
Figura 3.6. Teor de fenólicos totais de extratos correspondentes a 6 extrações sucessivas de maçãs da variedade <i>Royal Gala</i> com 100% de acetona.	119
Figura 3.7. Influência da presença de ácido e do tempo de contacto entre solvente e matriz no teor de compostos fenólicos totais em extratos de maçãs da variedade <i>Royal Gala</i> .	120
Figura 3.8. Teor de fenólicos totais de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas.	121
Figura 3.9. Carotenóides totais de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas.	124
Figura 3.10. Atividade antioxidante (DPPH) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas de variedades exóticas e tradicionais.	127
Figura 3.11. Atividade antioxidante (FRAP) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de de maçãs portuguesas.	129
Figura 4.1. Estrutura das principais classes de fenólicos	144
Figura 4.2. Estrutura dos ácidos hidroxibenzóicos injetados	154
Figura 4.3. Estrutura dos ácidos hidroxicinâmicos injetados	154

Figura 4.4. Cromatograma da fração F2 (a 280 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	159
Figura 4.5. Cromatograma da fração F3 (a 280 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	159
Figura 4.6. Cromatograma da fração F1 (a 280 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	160
Figura 4.7. Cromatograma da fração F4 (a 280 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	160
Figura 4.8. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da polpa da variedade <i>Maçã Branca</i>	166
Figura 4.9. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da polpa da variedade <i>Reineta Parda</i>	167
Figura 4.10. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	168
Figura 4.11. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da casca da variedade <i>Reineta Parda</i>	169
Figura 4.12. Cromatograma da fração F3 (520 nm) da casca da variedade <i>Jonagold</i>	170
Figura 4.13. Cromatograma da fração F3 (280 nm) da polpa da variedade <i>Maçã Branca</i>	171
Figura 4.14. Cromatograma da fração F3 (320 nm) da polpa da variedade <i>Maçã Branca</i>	171
Figura 4.15. Cromatograma da fração F3 (360 nm) da polpa da variedade <i>Maçã Branca</i>	172
Figura 4.16. Cromatograma da fração F3 (280 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	172
Figura 4.17. Cromatograma da fração F3 (320 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	173
Figura 4.18. Cromatograma da fração F3 (520 nm) da casca da variedade <i>Maçã Branca</i>	173
Figura 4.19. Teor de ácido clorogénico, (–)-epicatequina e procianidina B2 (mg/100 g PF) na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.	191
Figura 4.20. Teor de ácido clorogénico, (–)-epicatequina e procianidina B2 (mg/100 g PF) na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	191
Figura 4.21. Contribuição média dos principais compostos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.	195
Figura 4.22. Contribuição média dos principais compostos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	196
Figura 4.23. Contribuição média, estimada, dos principais compostos para o teor de fenólicos totais de 17 variedades de maçãs (polpa + casca) de Portugal.	196
Figura 4.24. Contribuição média das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.	197
Figura 4.25. Contribuição média das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	198
Figura 4.26. Contribuição média, estimada, das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais no fruto inteiro (polpa + casca) de 17 variedades de maçãs de Portugal.	198
Figura 4.27. Contribuição percentual das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.	199
Figura 4.28. Contribuição percentual das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	200

Figura 5.1. Correlação de Pearson entre o teor de sólidos totais, cinzas e compostos minerais, relativamente aos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) no fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	215
Figura 5.2. Correlações entre as classes de fenólicos e o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	220
Figura 5.3. Correlações entre as classes de fenólicos e a atividade redutora (FRAP), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	221
Figura 5.4. Variáveis fortemente correlacionadas com a atividade antirradicalar (DPPH), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	222
Figura 5.5. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	226
Figura 5.6. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com a atividade antioxidante (FRAP), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	229
Figura 5.7. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com a atividade antioxidante (DPPH), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	230
Figura 5.8. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC relativamente ao teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.	231
Figura 5.9. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC relativamente ao teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	232
Figura 5.10. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	238
Figura 5.11. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade redutora (FRAP) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	239
Figura 5.12. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade antirradicalar (DPPH) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	240
Figura 5.13. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	241
Figura 5.14. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade redutora (FRAP) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	242
Figura 5.15. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade antirradicalar (DPPH) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da <i>Reineta Parda</i>) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.	243

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1. Consumo mundial de maçã (kg/hab./ano) (adaptado de FAOSTAT, 2012).....	7
Tabela 1.2. Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) e de Azoto (RNS) (adaptado de Somogyi <i>et al.</i> , 2007).....	17
Tabela 2.1. Teor de água em maçãs (polpa + casca). Valores expressos em g/100 g de peso fresco.	46
Tabela 2.2. Teor de cinzas em maçãs (polpa + casca). Valores expressos em g/100 g de peso fresco.	47
Tabela 2.3. Composição inorgânica de maçãs. Elementos minerais e azoto em maçãs.....	48
Tabela 2.4. Teor de acidez total de diversas variedades de maçã.....	49
Tabela 2.5. Concentração de açúcares totais e dos principais açúcares individuais presentes em maçãs.	50
Tabela 2.6. Relação entre o teor de açúcar e o teor de ácidos orgânicos totais em maçãs.	52
Tabela 2.7. Teor de fibras totais em maçãs.....	53
Tabela 2.8. Origem das variedades tradicionais portuguesas.	56
Tabela 2.9. Origem das variedades exóticas.	57
Tabela 2.10. Peso do fruto inteiro, frações casca e polpa e relação polpa/casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.....	66
Tabela 2.11. Teor em água, cinzas e composição mineral de 17 variedades de maçãs de Portugal.	69
Tabela 2.12. Teor em água, cinzas e composição mineral para as diferentes variedades de maçãs agrupadas segundo o seu tipo (tradicional/exótica) e origem geográfica.	71
Tabela 2.13. Teor de azoto de 17 variedades de maçãs de Portugal.	76
Tabela 2.14. Valores médios de azoto e fósforo para o fruto inteiro, polpa e casca das diferentes variedades de maçãs, agrupadas segundo o seu tipo (tradicional/exótica) e origem geográfica.	78
Tabela 2.15. Teor de fósforo de 17 variedades de maçãs de Portugal.	81
Tabela 2.16. Teor de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais de 17 variedades de maçãs de Portugal.	83
Tabela 2.17. Teor de acidez titulável de 17 variedades de maçãs e classificação quanto ao seu grau de acidez.	84
Tabela 2.18. Teor de acidez titulável segundo a proveniência geográfica das maçãs.	85
Tabela 2.19. Relação açúcares/acidez de 17 variedades de maçãs e classificação quanto ao seu grau de doçura/acidez.	86
Tabela 2.20. Relação açúcares/acidez segundo a proveniência geográfica das maçãs.	88
Tabela 2.21. Teor de fibra de 17 variedades de maçãs de Portugal.	90
Tabela 3.1. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em polpa de maçãs (mg/100 g de peso fresco).	104
Tabela 3.2. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em casca de maçãs (mg/100 g de peso fresco). ...	105
Tabela 3.3. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em maçãs com casca (mg/100 g de peso fresco).	105

Tabela 3.4. Carotenóides totais em Maçãs.....	107
Tabela 3.5. Atividade Antioxidante (DPPH) em polpa de maçãs (por 100 g de peso fresco).	109
Tabela 3.6. Atividade Antioxidante (DPPH) em casca de maçãs (por 100 g de peso fresco). ...	110
Tabela 3.7. Atividade Antioxidante (FRAP) em casca de maçãs (por 100 g de peso fresco).....	110
Tabela 3.8. Atividade Antioxidante (FRAP) em polpa de maçãs (por 100 g de peso fresco).....	110
Tabela 3.9. Atividade Antioxidante (FRAP) em maçãs (polpa + casca) (por 100 g de peso fresco).	111
Tabela 3.10. Teor de fenólicos totais no fruto inteiro e nas frações polpa e casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.	122
Tabela 3.11. Carotenóides totais no fruto inteiro e nas frações polpa e casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.....	125
Tabela 3.12. Teor de carotenóides totais segundo a proveniência geográfica das maçãs.....	126
Tabela 3.13. Atividade antirradicalar (DPPH) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.....	128
Tabela 3.14. Atividade de redução férrica (FRAP) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.	130
Tabela 4.1. Ordem de eluição, janela de retenção, parâmetros de calibração e limites de deteção e de quantificação dos padrões cromatográficos utilizados.....	162
Tabela 4.2. Ordem de eluição e tempos de retenção dos principais compostos identificados na polpa e na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.....	163
Tabela 4.3. Teor de fenólicos de fenólicos totais determinado por Folin-Ciocalteu e por HPLC- DAD de 17 variedades de maçãs de Portugal.	176
Tabela 4.4. Composição de fenólicos de 17 variedades de maçãs de Portugal.	177
Tabela 5.1. Coeficientes de correlação entre alguns compostos e as principais classes de fenólicos e a atividade antioxidante em maçãs.....	212
Tabela 5.2. Correlações de Pearson entre o teor de azoto e o teor de açúcares e acidez titulável de variedades exóticas e tradicionais.....	217
Tabela 5.3. Coeficientes de correlação de Pearson relativos à correlação entre antocianinas e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH) em variedades com antocianinas.	223
Tabela 5.4. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na polpa de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.	234
Tabela 5.5. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na casca de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.	234

NDICE DE EQUAÇÕES

Eq. 2.1. Determinação do teor em água	58
Eq. 2.2. Determinação do teor em cinzas	59
Eq. 2.3. Determinação da composição mineral	59
Eq. 2.4. Determinação do azoto total	60
Eq. 2.5. Determinação do fósforo total	61
Eq. 2.6. Determinação da acidez titulável	62
Eq. 2.7. Determinação dos açúcares redutores	63
Eq. 2.8. Determinação dos açúcares totais	63
Eq. 2.9. Determinação dos açúcares não redutores	63
Eq. 2.10. Determinação do teor de fibras	64
Eq. 3.1. Determinação de carotenóides totais (mol/L)	115
Eq. 3.2. Determinação de carotenóides totais (µg/100 g)	115
Eq. 4.1. Determinação do limite de detecção (LOD)	157
Eq. 4.2. Determinação do limite de quantificação (LOQ)	157



CAPÍTULO 1

Introdução Geral

- Perspetiva histórica
- Produção e consumo de maçãs
- Uso de pesticidas
- Composição química da maçã
- Processos de oxidação
- Propriedades biológicas das maçãs

1.1. INTRODUÇÃO

A maçã é um fruto com características sensoriais muito agradáveis, que nos vem alimentando o corpo e o espírito ao longo de milhares de anos. Associada à religião cristã, passou a ser a principal representação da transgressão de Adão e Eva no Jardim do Éden (Zierer, 2001). Já na era moderna e contemporânea a maçã tem sido associada à revolucionária teoria da Lei da Gravitação Universal desenvolvida por Isaac Newton.

A maçã pertence ao género *Malus*, família das rosáceas e encontra-se dispersa por vastas áreas do globo, com especial incidência no hemisfério norte, de onde é oriunda. Conhecem-se cerca de 25 espécies e mais de 7.500 variedades de maçãs cultivadas, que variam em tamanho, forma, cor, firmeza, textura, suculência, sabor (sensações de doce, azedo, salgado e amargo), aroma (compostos voláteis) e valor nutricional (Bhatti & Jha, 2010; Ćetković *et al.*, 2008; Echeverría *et al.*, 2004; Aaby *et al.*, 2002).

Ninguém sabe ao certo quantas variedades regionais/tradicionais de maçãs existem espalhadas pelo mundo, mas sabe-se que em Portugal o número ascenderá pelo menos às centenas, havendo consciência de que algumas terão já desaparecido. Só na Estação Agronómica de Viseu existem 161 variedades regionais, de acordo com o inventário revelado pela Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro (DRAPC, 2011).

As maçãs têm constituído matéria de diversos estudos epidemiológicos publicados ao longo dos anos, que têm demonstrado que este fruto é detentor de um grande número de efeitos benéficos para a saúde, entre os quais a relação inversa entre o seu consumo e o desenvolvimento de algumas condições patológicas, nomeadamente o cancro e as doenças cardiovasculares, entre outras (Zessner *et al.*, 2008; Yoon & Liu, 2007; Knekt *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2002; Feskanich *et al.*, 2000; Marchand *et al.*, 2000; Knekt *et al.*, 1996; Kitts, 1994). A atividade biológica das maçãs tem sido sobretudo atribuída à ação antioxidante dos polifenóis. Sabe-se que diferentes espécies e variedades de maçãs contêm diferentes tipos e quantidades de compostos antioxidantes, alguns deles exclusivos destes frutos, como por exemplo a floridzina (Spanos & Wrolstad, 1992). Ora essas propriedades antioxidantes, e também as propriedades antimutagénicas e antimicrobianas encontradas em diversas variedades de maçãs, através de avaliação *in vitro* e *in vivo*, têm demonstrado a grande importância do consumo de maçãs, e aumentado o nosso conhecimento sobre as propriedades funcionais destes frutos (Serra *et al.*, 2010a; Sun *et al.*, 2002; Knekt *et al.*, 1997; Feskanich *et al.*, 2000, Trias *et al.*, 2008; Molnár *et al.*, 2005).

Apesar de existir uma grande diversidade de maçãs, apenas uma pequena parte pode ser encontrada nos pontos de venda habituais. As variedades de maçãs exóticas beneficiam, em consequência da sua produção intensiva, de um sistema de distribuição alargado e extenso onde apenas algumas variedades tradicionais, como é o caso da *Bravo de Esmolfe*, se encontram incluídas. Afastadas do circuito de venda, ou relegadas a relações comerciais exclusivamente de carácter regional ou local, as maçãs tradicionais Portuguesas sofreram uma

diminuição substancial de produção, de tal forma que muitas delas correm um sério risco de desaparecerem, e outras ter-se-ão, porventura, já perdido.

Este facto é preocupante pelas inerentes consequências negativas na biodiversidade e riqueza socioeconómica da produção agrícola nacional de maçãs. Para além disso, a excelência das características organoléticas que inúmeras variedades regionais apresentam, pode estar a ser subestimada no que respeita às vertentes nutricional e comercial. No entanto, reconhecem-se limitações ao nível da otimização do sistema de produção e distribuição de algumas variedades tradicionais que importa também considerar (e.g. resistência a doenças, produtividade, tamanho, aspeto, etc.), que poderão ser ultrapassadas mediante a implementação de sistemas de melhoramento da produção agrícola já desenvolvidos para outras variedades. No que se refere às variedades tradicionais envolvidas neste estudo, estas apresentam na sua maioria excelentes qualidades sensoriais e nutricionais pelo que poderiam perfeitamente ser eleitas para ombrear nas bancas de fruta, senão com todas, pelo menos com algumas das variedades exóticas de maçãs mais consumidas em Portugal.

1.1.1. Perspetiva histórica

Existem evidências arqueológicas em vários locais na Europa que indicam que no período Neolítico (há cerca de 11.200 anos), e na Idade do Bronze, a atividade coletora de maçãs silvestres (provavelmente *Malus sylvestris*) já era levada a cabo. Devido ao seu intenso sabor amargo, estas maçãs seriam cozinhadas ou desidratadas ao sol para poderem ser consumidas (Ferree & Warrington, 2003).

As variedades de maçã doméstica terão evoluído a partir de algumas destas populações de maçãs silvestres, possivelmente a partir da *Malus sieversii* e de um precursor da *Malus pumila*, existentes no antigo Turquistão (região que compreende atualmente o Turquemenistão, Uzbequistão, Quirguistão, Tajiquistão, sul do Cazaquistão, China ocidental e noroeste do Afeganistão). É reconhecido que esta região possui ainda hoje uma grande diversidade de maçãs – especialmente no centro e Sul da China – e de que terá sido o centro da origem da maçã doméstica. Pensa-se que o género *Malus* terá sido colonizado e alvo de migrações na área de Tian Shan, no Corredor de Gansu, na China, há cerca de 3 milhões de anos. A migração para ocidente terá ocorrido pelo corredor Turco, estendendo-se desde a China em direção ao Mediterrâneo, com algumas incursões no Norte da Sibéria (Figura 1.1) (Juniper & Mabberley, 2006).

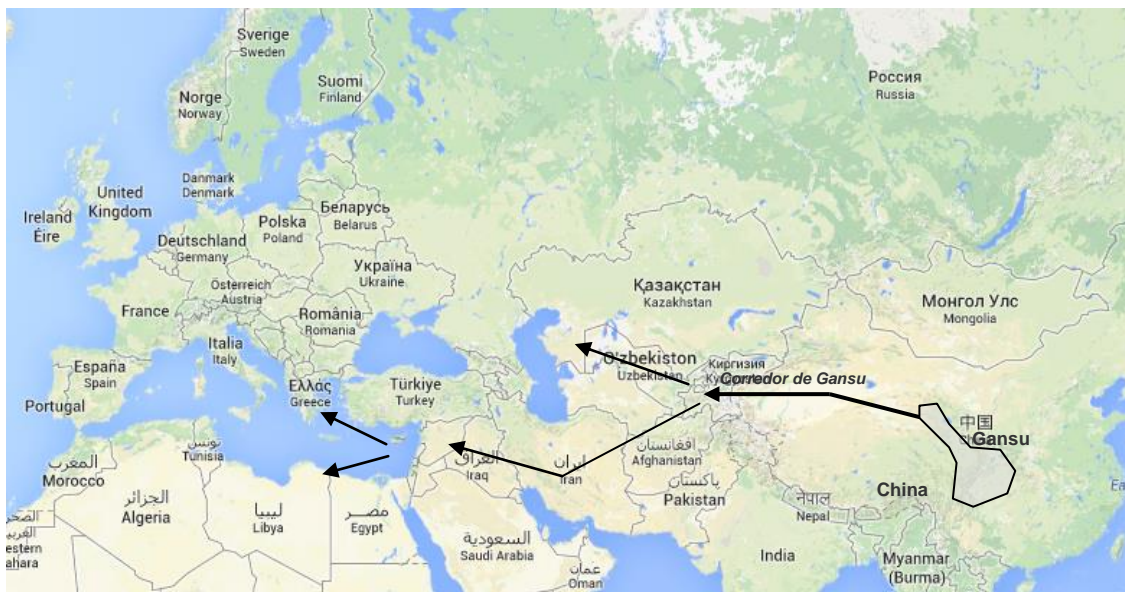


Figura 1.1. Corredor de Gansu (China) e principais rotas migratórias de maçãs para o ocidente.

(adaptado de Juniper & Mabberley, 2006)

A Mesopotâmia, região situada entre os rios Tigre e Eufrates, é provavelmente o núcleo mais antigo de hortifruticultura organizada do mundo. Todavia, os primeiros pomares de que há registo foram instalados há cerca de 3.100 anos na Assíria (área da atual Síria, parte do Iraque e Turquia) e, há cerca de 2.600 anos, nos Jardins da Babilónia – uma das antigas Sete Maravilhas do Mundo. Mais tarde, o império Persa – dotado de conhecimentos muito sofisticados nas vertentes da agricultura e da hortifruticultura – ocupou a Mesopotâmia e, entre 558 e 529 a.C., alargou o seu império desde a Grécia até à Índia (Ferree & Warrington, 2003) e terá contribuído para a disseminação da maçã.

As macieiras terão sido apenas introduzidas na Península Ibérica no decorrer da ocupação romana. A invasão árabe, no século VIII, terá acrescentado outras variedades que beneficiaram, mais tarde, da contribuição das ordens religiosas cristãs para a sua dispersão pelas diversas regiões de Portugal (Lemos *et al.*, 2009). A facilidade de adaptação da macieira, nomeadamente a climas relativamente frios, terá contribuído para a extraordinária riqueza de variedades de maçãs que Portugal (Neves & Lopes, 2000) e a Europa evidenciam atualmente, muitas delas representadas em Inglaterra, na coleção nacional de fruta sediada em Brogdale, Kent, onde estão alojadas mais de 3.500 variedades, constituindo a maior coleção de variedades de maçãs existente no mundo (McAusland, 2009).

1.1.2. Produção e consumo de maçãs

Os últimos dados disponíveis indicam que, em 2010, os frutos produzidos mundialmente em maior escala estavam ordenados da seguinte forma: bananas (102.028.171 t), maçãs (69.511.975 t), laranjas (68.332.573 t) e uvas (67.116.255 t) (FAOSTAT, 2012). Os maiores

produtores de maçãs localizam-se no hemisfério Norte e são liderados pela China, que registou em 2009 uma produção de cerca de 33 mil milhões de toneladas, ou seja, 48% (era 42% em 2007) da produção mundial. Os Estados Unidos da América (EUA) surgem em segundo lugar, a uma distância considerável, com uma produção de pouco mais de 4 mil milhões de toneladas (6%). A Turquia é o país da Europa com maior produção de maçãs, com 3,7%, enquanto Portugal contribui apenas com 0,24% (era 0,40% em 2007), quantidade insuficiente para as necessidades do nosso país (FAOSTAT, 2012). A produção de maçãs em Portugal atingiu a cota de 165 mil toneladas em 2010, longe do pico que ocorreu em 2002, ano em que foram produzidas 300 mil toneladas (Figura 1.2) (FAOSTAT, 2012).

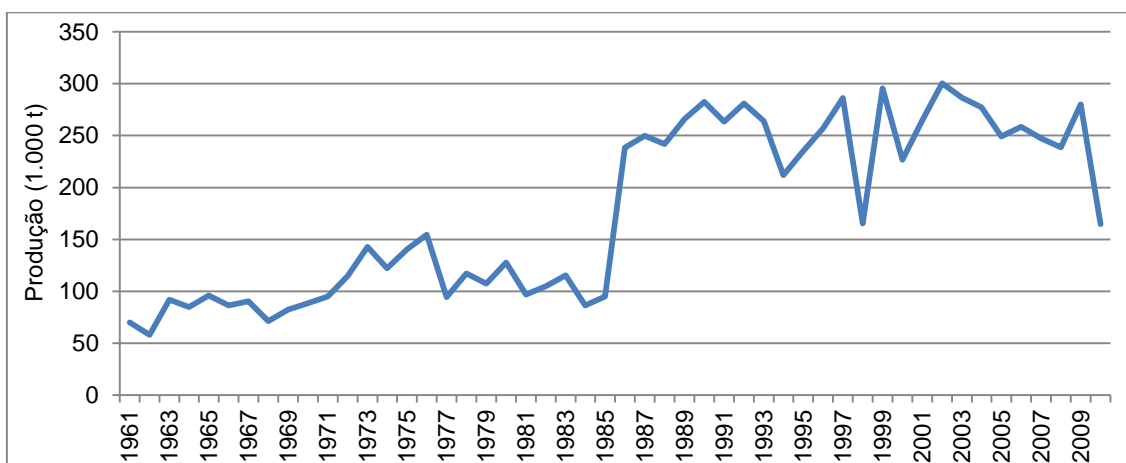


Figura 1.2. Produção de maçãs em Portugal entre 1961 e 2010 (FAOSTAT, 2012).

A Figura 1.3 mostra a produção de maçãs a nível mundial e em diferentes regiões do globo. É evidente o contributo da China para o aumento da produção mundial. Por outro lado, a produção na Europa tem diminuído desde o final da década de 1980 e encontra-se hoje ao nível do registado em 1962.

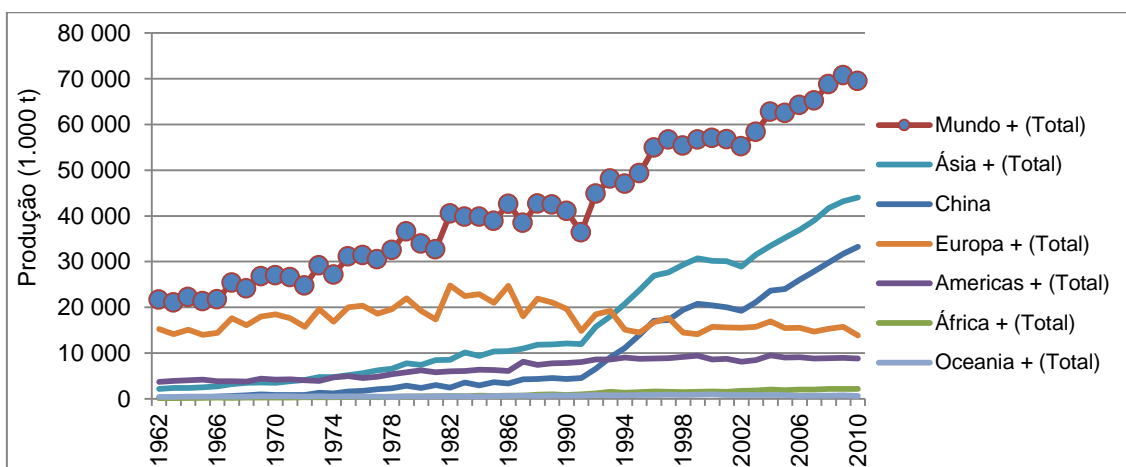


Figura 1.3. Produção mundial de maçãs por regiões do Globo e China (1961 a 2010) (FAOSTAT, 2012).

De acordo com os últimos dados disponíveis do Instituto Nacional de Estatística, relativos a 2011 (INE, 2011), a maçã continua a ser o fruto mais produzido em Portugal, numa lista que se encontra assim ordenada: maçãs (247.229 t), peras (230.447 t), laranjas (228.101 t), pêssegos (34.520t), tangerinas (33.000 t), kiwis (23.473 t), bananas (20.917 t) e uvas (17.390 t).

Das variedades de maçãs com maior expressão de cultivo no país destacam-se as seguintes: *Golden Delicious*, *Royal Gala*, *Red Delicious*, *Starking*, *Jonagold*, *Jonagored*, *Reineta Parda* e *Bravo de Esmolfe*. Produzidas em quantidades inferiores temos as variedades *Riscadinha de Palmela*, *Casa Nova*, *Granny Smith* e *Pink Lady* (WAPA, 2011; GPP, 2007).

No que respeita ao consumo, dados de 2012 indicam que os portugueses consumiram nesse ano 26,2 kg de maçãs/habitante (INE, 2012), muito aquém do consumo verificado em outros países. De facto, fazendo uso dos dados mais atuais da FAOSTAT, referentes a 2009, o consumo de maçãs em Portugal foi nesse ano de 28,7 kg/habitante, muito abaixo do consumo registado na República de Montenegro que atingiu 54,3 kg/habitante (FAOSTAT, 2012) (Tabela 1.1).

Tabela 1.1. Consumo mundial de maçã (kg/hab./ano) (adaptado de FAOSTAT, 2012).

Países/Regiões	1961 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	1970 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	1980 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	1990 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	2000 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	2009 ⁽¹⁾	% ⁽²⁾
Montenegro	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	54,3	571,6
Eslovénia	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	45,3	539,3	43,4	456,8
Baamas	2,5	58,1	4,0	64,5	4,3	64,2	4,4	63,8	35,5	422,6	42,9	451,6
Áustria	56,9	1323,3	38,0	612,9	41,7	622,4	43,2	626,1	56,9	677,4	42,6	448,4
Hungria	18,3	425,6	23,8	383,9	24,4	364,2	24,9	360,9	34,4	409,5	42,3	445,3
Luxemburgo	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	42,0	500,0	36,3	382,1
Noruega	15,5	360,5	16,3	262,9	20,7	309,0	21,5	311,6	14,8	176,2	34,6	364,2
Lituânia	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	38,8	461,9	33,2	349,5
Turquia	9,1	211,6	19,6	316,1	29,4	438,8	29,4	426,1	32,2	383,3	32,8	345,3
Holanda	20,5	476,7	32,2	519,4	41,8	623,9	34,5	500,0	33,0	392,9	31,3	329,5
Islândia	7,1	165,1	8,6	138,7	10,3	153,7	11,2	162,3	15,4	183,3	29,5	310,5
Bélgica	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	31,6	376,2	29,1	306,3
Austrália	17,2	400,0	22,1	356,5	16,3	243,3	17,2	249,3	14,8	176,2	28,1	295,8
Portugal	7,0	162,8	9,2	148,4	11,4	170,1	27,9	404,3	26,5	315,5	28,1	295,8
Reino Unido	10,0	232,6	14,3	230,6	12,9	192,5	18,0	260,9	16,0	190,5	27,8	292,6
Coreia do Sul	4,3	100,0	4,7	75,8	23,1	344,8	28,8	417,4	25,1	298,8	27,0	284,2
Macedónia	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	28,5	339,3	24,3	255,8
EUA	12,3	286,0	13,1	211,3	15,7	234,3	23,4	339,1	20,6	245,2	24,2	254,7
Alemanha	19,1	444,2	42,9	691,9	46,2	689,6	40,8	591,3	54,5	648,8	20,8	218,9
Rússia	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	13,6	161,9	20,0	210,5
Itália	22,8	530,2	24,2	390,3	17,9	267,2	23,7	343,5	22,4	266,7	19,5	205,3
Suécia	16,4	381,4	22,6	364,5	18,6	277,6	28,4	411,6	16,0	190,5	17,7	186,3
China	0,1	2,3	0,8	12,9	2,0	29,9	3,2	46,4	11,4	135,7	16,2	170,5
Grécia	17,3	402,3	20,3	327,4	14,1	210,4	24,2	350,7	18,3	217,9	13,9	146,3
Argentina	11,3	262,8	8,9	143,5	22,0	328,4	10,6	153,6	14,3	170,2	13,4	141,1
Espanha	5,8	134,9	7,9	127,4	20,4	304,5	14,7	213,0	20,7	246,4	12,3	129,5
França	9,2	214,0	21,4	345,2	5,5	82,1	8,9	129,0	8,5	101,2	11,8	124,2
Chile	9,3	216,3	9,7	156,5	4,6	68,7	12,3	178,3	1,2	14,3	9,9	104,2
Brasil	0,8	18,6	1,3	21,0	1,6	23,9	3,9	56,5	5,6	66,7	5,0	52,6
Mundo	4,3	100,0	6,2	100,0	6,7	100,0	6,9	100,0	8,4	100,0	9,5	100,0
Oceânia	15,7	365,1	20,7	333,9	17,2	256,7	16,7	242,0	18,2	216,7	25,5	268,4
União Europeia	14,3	332,6	23,0	371,0	22,4	334,3	24,0	347,8	25,6	304,8	20,6	216,8
Europa	12,3	286,0	21,7	350,0	22,3	332,8	20,5	297,1	21,2	252,4	20,1	211,6
Américas	7,4	172,1	7,5	121,0	8,8	131,3	11,6	168,1	10,5	125,0	12,1	127,4
Ásia	1,0	23,3	1,5	24,2	2,5	37,3	3,5	50,7	6,7	79,8	8,5	89,5
África	0,4	9,3	0,4	6,5	0,6	9,0	0,9	13,0	1,6	19,0	2,1	22,1

Tabela ordenada de forma decrescente de acordo com a produção de 2009.

(1) Consumo em kg/hab./ano. (2) Percentagem em relação ao consumo mundial. (3) Dados inexistentes.

Apesar de continuar a liderar a lista dos frutos mais consumidos em Portugal, o consumo de maçãs tem diminuído consideravelmente desde 2002, acompanhando a tendência de redução de consumo de outros frutos, nomeadamente de pera, pêssago, uva e laranja (INE, 2012) (Figura 1.4).

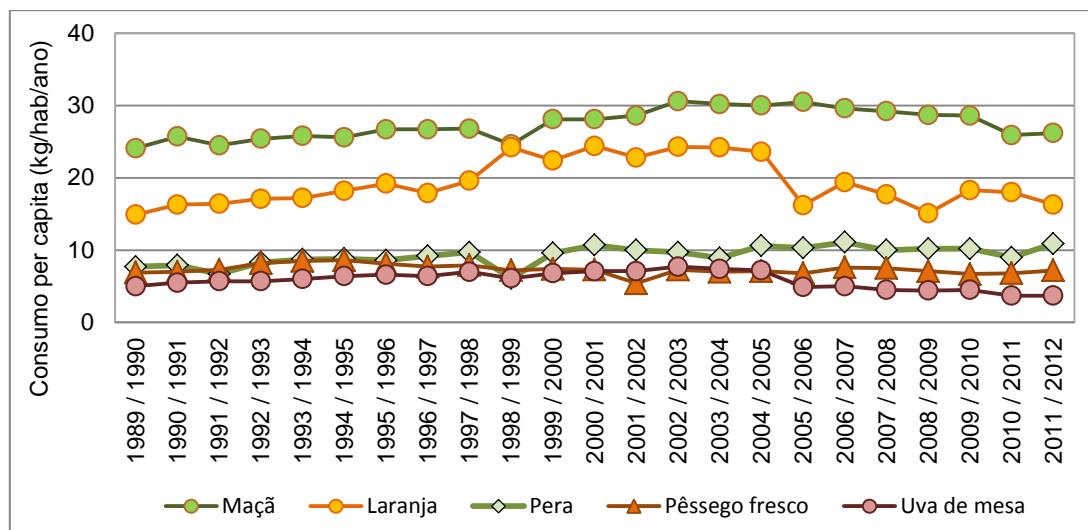


Figura 1.4. Consumo de frutos *per capita* (kg/hab./ano) por espécie frutícola em Portugal (1990 a 2012). Dados de 2010/2011 provisórios (INE, 2012).

As organizações nacionais e internacionais ligadas à saúde e à nutrição, preocupadas com o aumento de prevalência de doenças associadas aos novos estilos de vida, têm alertado para a necessidade do aumento do consumo de frutos e vegetais. De acordo com a Iniciativa de Promoção de Frutos e Vegetais da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), é aconselhado o consumo de, no mínimo, 5 porções (400 g) de frutos e vegetais, por dia, por pessoa. Já a Associação Portuguesa dos Nutricionistas vai um pouco mais além e aconselha a adoção dos conceitos que constam da Roda dos Alimentos (FCNAUP, 2003), recomendando o consumo de 3 a 5 doses de fruta (480-800 g) e outras 3 a 5 doses de produtos hortícolas (540-900 g ou 420-700 g), caso sejam, respetivamente, hortícolas crus ou cozinhados, devendo este conjunto de alimentos totalizar, respetivamente, cerca de 20% e 23% da dieta alimentar. Uma dieta rica em fruta pode ser responsável por uma redução substancial da pressão sanguínea, para além de outros efeitos, o que pode consistir numa forma da prevenção e tratamento da hipertensão, que é determinante na doença cardiovascular, uma das principais causas de morte em todo o mundo (Willet, 2010; Appel *et al.*, 1997).

1.1.3. Uso de pesticidas

A pressão exercida sobre a produtividade e a rentabilidade da produção de maçãs, e dos hortofrutícolas em geral, tem servido de justificação para o uso intensivo de pesticidas. A discussão sobre esta temática tem vindo a intensificar-se nos últimos anos e é crescente a procura por soluções mais ecológicas. Apesar de se reconhecer que foi já percorrido uma pequena parte do caminho, a quantidade de pesticidas aplicada é ainda muito elevada. Estima-se que, só nos EUA, o custo anual da aplicação de pesticidas exceda 1,3 mil milhões de dólares (Nansen & Ridsdill-Smith, 2013).

Os pesticidas – na sua maioria herbicidas, inseticidas e fungicidas – são utilizados na agricultura para aumentar os índices de produtividade e rentabilidade, devido à função que desempenham na proteção das culturas contra insetos, ervas daninhas, doenças fúngicas e infecções bacterianas. Contudo, estes produtos químicos não afetam apenas os organismos alvo, podendo acumular-se nas plantas e ser transmitidos ao longo da cadeia alimentar, e desencadear problemas de saúde de grande relevância – nomeadamente mutações e degradação celular (Panseri, 2013) – cuja gravidade está diretamente relacionada com uma série de fatores, entre os quais o tipo de químico, o nível do resíduo e a dose ingerida (Matt, 2013).

O conhecimento científico acerca dos mecanismos de ação, índice de toxicidade e efeitos nos organismos de alguns compostos químicos, tem conduzido as autoridades dos países mais desenvolvidos a limitarem ou a proibirem uma série de pesticidas que foram, outrora, utilizados. No entanto, nem todos os países ratificam decisões semelhantes. Yubao *et al.* (2013) reportou a existência de apenas 66 pesticidas proibidos e/ou limitados na China (o maior produtor mundial de maçãs). Já a União Europeia (o segundo maior produtor mundial), de acordo com a EU Pesticides Database (2013), possuía em Novembro de 2013 uma lista com 1297 substâncias ativas, sendo que 783 (cerca de 400 pesticidas) destes compostos se encontravam proibidas à data.

Neste domínio, o relatório de 2010 da União Europeia sobre resíduos de pesticidas em alimentos encontrou 94 pesticidas diferentes em maçãs dos quais se destacam os seguintes, por serem os mais comuns: ditiocarbamatos (fungicidas), dicarboximidas (fungicidas), difenilamina (regulador de crescimento, proibido na UE desde maio de 2010) e carboximidas (fungicidas), identificados em, respetivamente, 21,4%, 19,3%, 14,6% e 14,5% das amostras analisadas nos 28 países comunitários. Portugal surge classificado como um dos países com pior desempenho no controlo dos resíduos de pesticidas, excedendo em mais de 3% o limite máximo permitido. No que concerne às maçãs, das 63 amostras analisadas em Portugal, 5 excederam o limite máximo de resíduo (LMR) (EFSA, 2013).

Não é objetivo deste trabalho detalhar a temática dos pesticidas, até porque não existem evidências consistentes que associem o uso de pesticidas a uma diminuição significativa no desenvolvimento do teor de polifenóis em maçãs (Veberic *et al.*, 2005). Contudo, dado que o uso de pesticidas é uma realidade implantada, alguns autores sugerem a tomada de determinadas medidas por parte dos consumidores para reduzirem de forma substancial o teor destes compostos em maçãs, sugestões essas que são enumeradas de seguida. A simples lavagem dos frutos em água fria remove os resíduos soltos e a maioria dos compostos polares. A lavagem em água quente aumenta a remoção dos resíduos de pesticidas e pode hidrolisar substancialmente frações de compostos não-persistentes. Compostos que estejam ligados às camadas de cera da casca e que persistam eventualmente, podem ser eliminados com a

remoção da casca (Kauskik *et al.*, 2009). Mergnat *et al.*, 1995 mostraram que a lavagem de maçãs *Golden Delicious*, apenas com água, é responsável por uma redução entre 30 a 50% do composto fosalone (Mergnat *et al.*, 1995). Também em maçãs, Holland *et al.*, (1994) demonstraram que a lavagem com água reduz cerca de 60% de óxido de fenbutatin e que a lavagem com detergente aumenta ainda mais a remoção de resíduos de pesticidas, que pode chegar, dependendo do composto e do alimento, aos 97%.

1.1.4. Composição química da maçã

Apesar da composição nutricional da maçã divergir de acordo com as diversas espécies e variedades há, no entanto, algumas considerações gerais que podem ser destacadas (Figura 1.5). As maçãs contêm cerca de 80% de água, 10% de açúcares totais e uma porção considerável de fibras alimentares (2-3%) e de minerais, dos quais se destacam o sódio e o ferro. O teor em proteínas não ultrapassa 0,2% e o teor de lípidos 0,5%. O valor energético cifra-se em 57 kcal (238 kJ) por 100g de peso edível (INSA, 2006). As características químicas e funcionais das maçãs, nomeadamente no que se refere à sua componente fenólica, diferem significativamente de acordo com a variedade (a principal variante), o estado de maturação, o estado fisiológico, a parte do fruto analisada, a coloração da casca (vermelho, amarelo, verde ou bicolor) e da polpa (mais ou menos escura), a altura e o ano da colheita, mas também de acordo com fatores edafoclimáticos como a exposição solar, número de horas de frio, localização geográfica do pomar, condições do solo, o tipo de cultivo (biológico/intensivo), condições de *stress* a que o fruto é submetido, práticas agrícolas e condições de armazenamento e de transporte (Carbone *et al.*, 2011; Yuri *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008; Khanizadeh *et al.*, 2008; Kahle *et al.*, 2007; Petkovšek *et al.*, 2007; Veberic *et al.*, 2005; Tsao *et al.*, 2005; Łata *et al.*, 2005a; McGhie *et al.*, 2005; Echeverría *et al.*, 2004; Van der Sluis *et al.*, 2001; Mayr *et al.*, 1995).

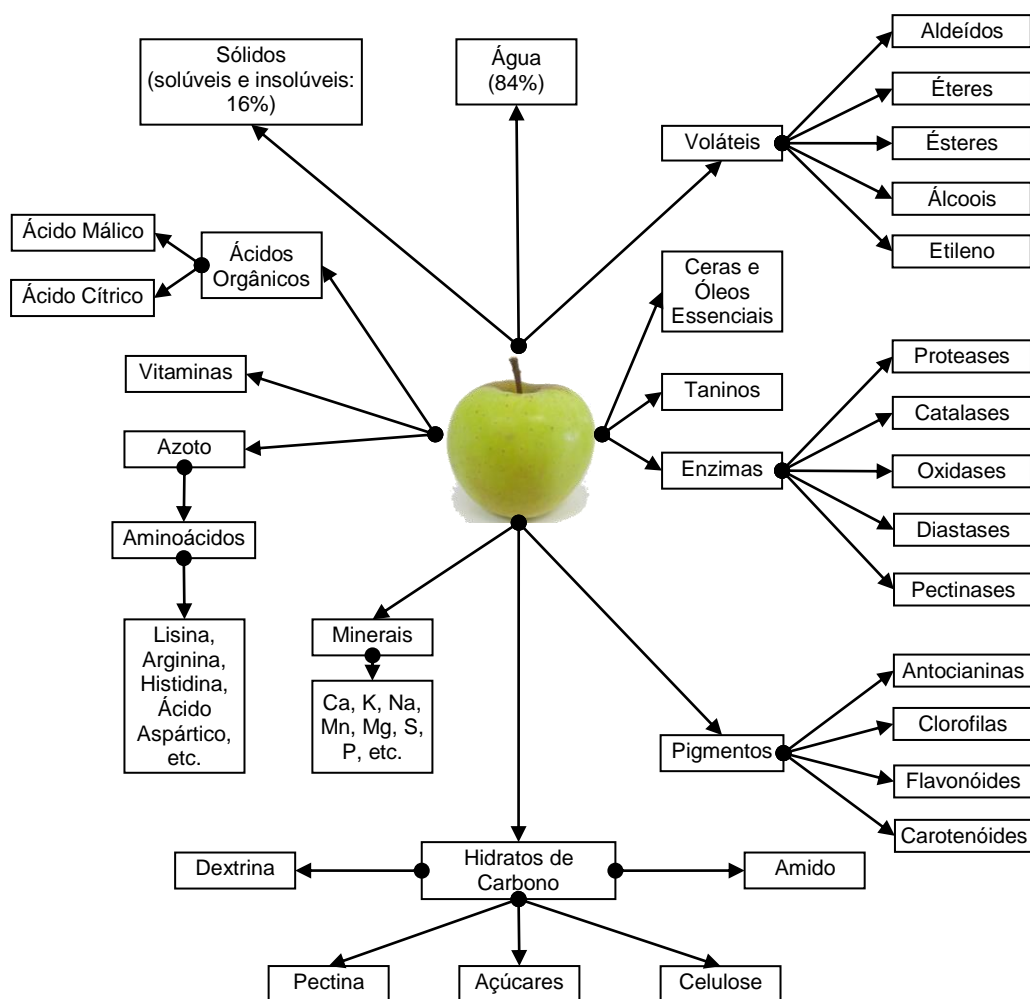


Figura 1.5. Representação esquemática simplificada dos componentes mais importantes das maçãs (adaptado de Lozano, 2006).

As maçãs são conhecidas por possuírem um sabor agradável e ligeiramente ácido, devido ao seu pH entre 3,90 e 4,27 (Vieira *et al.*, 2009) e à sua acidez total entre 0,91 e 1,67 mg/100 g de peso fresco (Leccese *et al.*, 2009). Por outro lado, o sabor das maçãs é também adocicado, dividido ao teor elevado em açúcares que evidenciam, nomeadamente frutose, galactose, sacarose, glucose e sorbitol (Feliciano *et al.*, 2010). Ora é exatamente a conjugação entre estes dois fatores, que mais contribui para a diferenciação do sabor das diversas variedades de maçãs (Petkovšek *et al.*, 2007).

1.1.4.1. Composição de polifenóis de maçãs

Os compostos fenólicos, vulgarmente denominados por polifenóis, são metabolitos secundários das plantas e dos frutos, e desempenham um papel importante na sua cor (incluem pigmentos amarelos, cor-de-laranja, vermelhos e azuis) e no seu sabor (essencialmente amargura e adstringência) (Kim *et al.*, 2003; Cheynier, 2005; Miller *et al.*, 1995; Spanos & Wrolstad, 1992;

Khanizadeh *et al.*, 2007b). Estes metabolitos estão também envolvidos no crescimento e na reprodução das plantas, conferem resistência contra agentes patogénicos, predadores e outras pragas, e protegem as culturas da germinação precoce das sementes (Łata *et al.*, 2009; Petkovšek *et al.*, 2007; Veberic *et al.*, 2005).

Os polifenóis são compostos antioxidantes que atrasam ou inibem os processos de oxidação de lípidos ou outras biomoléculas, através da inibição da iniciação/propagação das reações oxidativas em cadeia e, por isso, capazes de contrariar os efeitos negativos da oxidação que ocorrem nos tecidos animais (Huang *et al.*, 2005). Estes compostos são, pois, conhecidos pelos seus efeitos bioativos no organismo humano onde atuam como antioxidantes, antimutagénicos (Soares *et al.*, 2008; Linseisen *et al.*, 2007; Feskanich *et al.*, 2000), antivirais (Suárez *et al.*, 2010; Hamauzu *et al.*, 2005) e sequestradores de radicais livres (Bravo, 1998; Mustafa *et al.*, 2010), entre outros efeitos. A atividade de sequestração de radicais livres dos compostos fenólicos fica a dever-se essencialmente às suas propriedades de redução, as quais permitem que estes atuem como agentes doadores de electrões e de prótons e sequestradores de oxigénio singlete (Babbar *et al.*, 2011).

Foram já identificadas mais de 8.000 estruturas fenólicas, que variam estruturalmente desde simples moléculas (i.e. ácidos fenólicos com uma estrutura de anel C6) até compostos altamente polimerizados (i.e., taninos) (Kris-Etherton *et al.*, 2002). Em termos químicos, os fenólicos são compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxilo e são geralmente classificados em ácidos fenólicos, flavonóides, stilbenos, cumarinas e taninos (Figura 1.6).

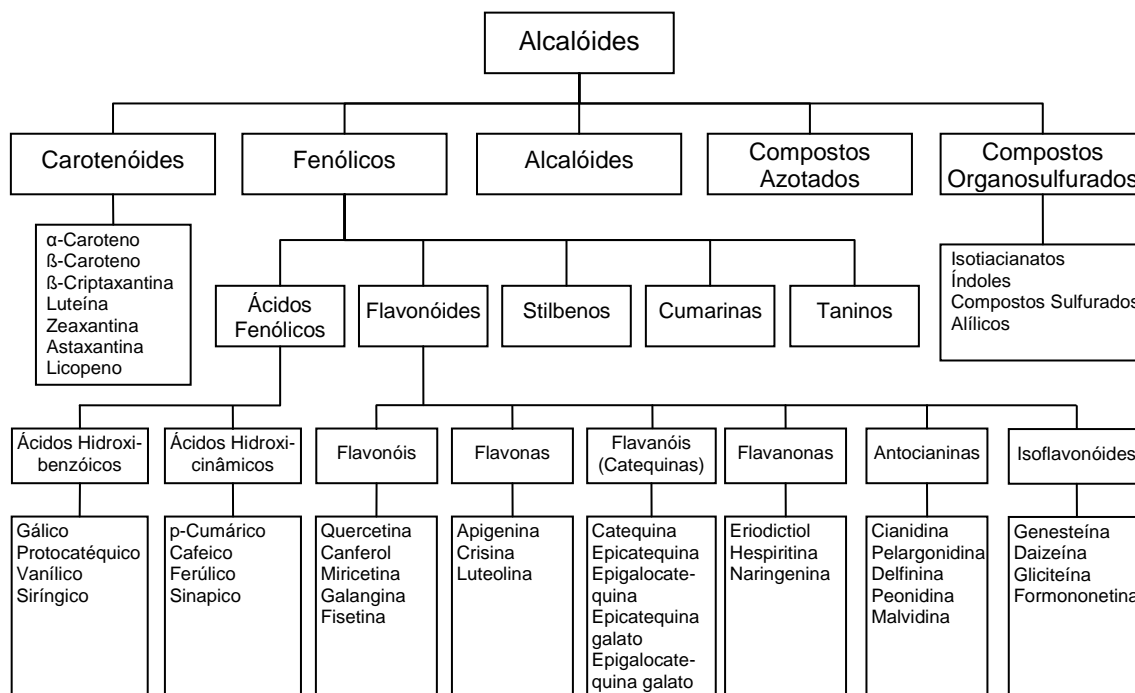


Figura 1.6. Classificação dos fitoquímicos da dieta (adaptado de Liu, 2004).

Na indústria alimentar, os polifenóis são utilizados em baixas concentrações para proteger os alimentos contra a deterioração oxidativa. Contudo, em concentrações elevadas, podem contribuir para a descoloração dos alimentos e interagir com proteínas, hidratos de carbono e minerais (Imeh & Khokhar, 2002), e promover a formação de sedimentos indesejáveis e de pigmentos amarelos e escuros (escurecimento), nomeadamente em sumos de fruta (Spanos & Wrolstad, 1992; Olesek *et al.*, 1988). Ainda relativamente a este setor, importa salientar que o fracionamento do fruto – que ocorre durante o processamento de alguns produtos derivados, como o sumo de maçã – conduz à perda de uma fração importante de compostos fenólicos, designadamente flavonóis e dihidrochalconas (e.g. floridzina), que se encontram sobretudo na casca (McGhie *et al.*, 2005; Van der Sluis *et al.*, 2001; Scalbert & Williamson, 2000).

A maçã constitui uma das principais fontes de polifenóis, em particular de flavonóides, da dieta ocidental (Carbone *et al.*, 2011; Boyer & Liu, 2004), e a sua atividade antioxidante está entre as mais elevadas por comparação com os frutos e vegetais frequentemente consumidos (Mari *et al.*, 2010). De entre diversos fitoquímicos da maçã, os polifenóis são aqueles que mais têm sido associados aos efeitos nutracêuticos que o fruto demonstra (Babbar *et al.*, 2011; Ćetković *et al.*, 2008; Boyer & Liu, 2004). Estudos recentes indicam que a maior parte dos compostos fenólicos presentes em maçãs são flavanóis (catequinas e procianidinas), os quais representam cerca de 63-71% do total de polifenóis, mas também podem ser encontrados ácidos hidroxicinâmicos em grandes quantidades (1-31%) (e.g. ácido clorogénico), flavonóis (2-10%) (glicosídeos de quercetina), dihidrochalconas (0,5-5%) (e.g., floridzina – composto fenólico específico das maçãs) e até antocianinas (1%) em maçãs vermelhas (Gerhauser, 2008; Wojdyło *et al.*, 2008; Cheynier, 2005). Estes compostos localizam-se sobretudo na casca do fruto, mas também na polpa, ainda que em concentrações bastante mais reduzidas (Chinnici *et al.*, 2004a; Spanos & Wrolstad, 1992). Apesar de a casca representar apenas cerca de 10% do peso do fruto inteiro, constitui uma importante fonte de compostos fenólicos (Łata *et al.*, 2009). Todos estes fitoquímicos podem encontrar-se noutros frutos vulgarmente consumidos, excetuando as dihidrochalconas (e.g. floridzina), que são específicas das maçãs (Cheynier, 2005).

Existem, de facto, diferenças entre a composição e a concentração de polifenóis na casca e na polpa do fruto. A casca constitui uma importante fonte de flavonóis, flavanóis, procianidinas, dihidrochalconas e hidroxicinamatos, de onde ressaltam a epicatequina, a procianidina B2 e a floridzina, como os compostos mais abundantes. Para além de polifenóis, a casca contém quantidades consideráveis de triterpenóides – essencialmente na parte interna – que se encontram concentrados na camada de cera cuticular, nomeadamente o ácido ursólico (principal constituinte desta camada de cera), que tem demonstrado possuir propriedades antioxidantes e que, dependendo do período ontogenético, pode atingir 32% (Frighetto *et al.*, 2008). A polpa, em comparação com a casca, é consideravelmente mais pobre em

fitoquímicos, mas possui, ainda assim, um teor muito relevante de procianidinas e de hidroxycinamatos e, em menor proporção, de flavonóis Chinnici *et al.* (2004b).

O teor de polifenóis totais em maçãs varia consideravelmente entre diferentes variedades, pelas razões apresentadas anteriormente. De acordo com os estudos já efetuados os valores oscilam entre 66,2 mg GAE/100 g de peso fresco (PF) (Vrhovsek *et al.*, 2004) e 420,5 mg GAE/100 g PF (Imeh & Khokhar, 2002), no fruto inteiro, entre 70,4 mg QE/100 g PF (Mari *et al.*, 2010) e 790,0 mg CAE/100 g PF (Yuri *et al.*, 2009), na casca e entre 19,4 mg GAE/100 g PF (Khanizadeh *et al.*, 2008) e 219,8 mg VCE/100 g PF (Eberhardt *et al.*, 2000), na polpa.

As maçãs são habitualmente armazenadas por longos períodos, logo após a colheita, em câmaras de refrigeração e por vezes em ambientes de atmosfera controlada/modificada, com adequação da concentrações de alguns gases, designadamente oxigénio, dióxido de carbono e azoto, pelo que são selecionadas para a produção em larga escala variedades que admitem estas condições, nomeadamente a *Fuji*, a *Golden delicious* e a *Gala* (Kader, 2010; Ahn *et al.*, 2007; Kader, 2003; Bender & Lunardi, 2001; Brackmann *et al.*, 1998; Saquet *et al.*, 1997; Brackmann *et al.*, 1995), em detrimento de variedades mais vulneráveis, como por exemplo a *Bravo de Esmolfe* (Rocha *et al.*, 2004). Este fator influencia muito mais o teor de compostos fenólicos do que, por exemplo as técnicas de produção frutícola. Neste sentido, sabe-se que o teor de fenólicos totais, a atividade antioxidante total e a atividade de sequestração de radicais, aumentam consideravelmente ao longo do tempo de armazenamento, independentemente das suas condições (refrigeração regular ou refrigeração em atmosfera controlada) (Leja *et al.*, 2003). Contudo, uma das formas mais importantes de manter a qualidade do fruto e minimizar as perdas durante o armazenamento é proceder à colheita na data mais apropriada, uma vez que os frutos colhidos, quer muito cedo quer muito tarde, são mais suscetíveis de sofrerem de desordens fisiológicas do que os frutos colhidos no estado de maturação considerado mais adequado à sua conservação (Kader, 1999; Paull, 1999).

Já as diferentes técnicas de produção frutícola, apesar de influenciarem a concentração de polifenóis em maçãs, não determinam uma diferença substancial no teor destes compostos entre maçãs produzidas em cultura intensiva e em modo biológico, sendo que esta oscilação é apenas notada ligeiramente na fração polpa, em benefício da produção biológica. Esta diferença poderá estar relacionada com as diversas fontes de genótipos, com a tecnologia utilizada durante o crescimento do fruto, ou ainda com o facto das maçãs biológicas estarem sujeitas a condições de *stress* muito superiores (devido à ausência de fertilizantes e pesticidas), o que contribuirá para uma resposta por parte da própria planta, que se traduzirá no aumento do seu teor de fenólicos (Veberic *et al.*, 2005). Contudo, dado que os estudos existentes entre estes diferentes modos de produção foram realizados em pomares que se encontravam afastados entre si, poderão concorrer uma série de outras variáveis para explicar as pequenas diferenças encontradas, nomeadamente fatores edafoclimáticos como a

exposição solar, o número de horas de frio e as condições do solo (Carbone *et al.*, 2011; Yuri *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008; Khanizadeh *et al.*, 2008).

1.1.4.2. Biodisponibilidade dos polifenóis

Estima-se que sejam ingeridos cerca de 1 g de polifenóis todos os dias através da dieta alimentar (Kahle *et al.*, 2007), muito embora a quantidade média absorvida pelo organismo humano se situe muito abaixo deste valor, uma vez que grande parte dos compostos não chegam a ser absorvidos devido, essencialmente, a fatores que influenciam a sua disponibilidade e metabolização (Bouayed *et al.*, 2012). Esta situação ocorre por exemplo com as antocianinas, cujo rácio de absorção é inferior a 1% da quantidade total ingerida (McDougall *et al.*, 2005).

As maçãs são digeridas no estômago (através da ação das enzimas e dos ácidos contidos do suco gástrico), no intestino delgado (pela ação de outras enzimas em ambiente ligeiramente básico) e, finalmente, no cólon (através da ação da microflora intestinal num ambiente com pH neutro). Parte dos fenólicos ingeridos, quer na forma solúvel quer na forma conjugada, sobretudo sob a forma conjugada de β -glicosídeos, passam pelo estômago e pelo intestino delgado e chegam intactos ao cólon, local onde são libertados e exibem os seus efeitos bioativos (Sun *et al.*, 2002). Alguns compostos fenólicos, como por exemplo determinados flavonóis, surgem no plasma em apenas 20 a 30 minutos após a ingestão, o que indica que são rapidamente absorvidos no intestino delgado, apesar da sua absorção poder ocorrer no cólon e até em maior proporção (Day *et al.*, 2000). Durante o processo de absorção os compostos fenólicos podem sofrer diversas alterações nomeadamente hidrólises e conjugações, o que ocasiona que nem sempre se encontrem no plasma na forma equivalente à existente no fruto. Por exemplo, a quercetina é metabolizada em apenas alguns minutos, tal como o ácido cafeico que se mostra indetetável no plasma após 90 minutos (Dupont *et al.*, 2002).

Apesar de existirem alguns estudos que se centraram sobre a questão da biodisponibilidade dos componentes em maçãs, e/ou dos seus subprodutos, o seu número é ainda reduzido. Os trabalhos disponíveis mostram que os polifenóis são absorvidos em diferentes porções do trato gastrointestinal – dependendo do composto – e que o rácio de absorção deriva de uma série de fatores relacionados, nomeadamente, com a matriz do alimento, o seu processamento, a sua digestão e absorção, e as interações existentes entre os diferentes componentes alimentares (Boyer & Liu, 2004; Bouayed *et al.*, 2012). Parte destes compostos não chega sequer a ser absorvido e é excretada na urina ou nas fezes (Boyer & Liu, 2004).

Sabe-se, todavia, que uma fatia importante dos compostos é absorvida no intestino delgado, como provam alguns estudos efetuados em voluntários com ileostomia, que mostram que a

maioria dos polifenóis (58,3%) é absorvida ou metabolizada no intestino delgado e que o restante (41,7%) é absorvido/metabolizado no cólon ou eliminados (Kahle *et al.*, 2005b). Estes dados estão de acordo com aqueles citados por Saura-Calixto e colaboradores (Saura-Calixto *et al.*; 2007) que mostraram que 48% dos polifenóis são absorvidos no intestino delgado, 42% absorvidos no intestino grosso e 10% não são metabolizáveis. Os glicosídeos de quercetina, por exemplo, são absorvidos em grande quantidade no intestino delgado (37% - 67%) e apenas 0,5% é eliminada através da urina (Hollman *et al.*, 1995). Outro dado interessante é o facto dos polifenóis presentes nos sacos de ileostomia continuarem a demonstrar atividade antioxidante em relação aos radicais peroxil e um potente efeito de sequestração dos radicais DPPH, mesmo após a sua passagem pelo aparelho gastrointestinal, pelo que se presume que estes possam exercer um efeito protetor local mesmo após os vários processos de metabolização que sofreram (Gerhauser, 2008).

Outros compostos fenólicos de baixo peso molecular, como por exemplo o ácido clorogénico, as catequinas e as procianidinas diméricas, são parcialmente absorvidos no intestino delgado, ao contrário do que acontece com as procianidinas altamente polimerizadas que parecem não ser absorvidas nesta porção do intestino (Hamaizu *et al.*, 2005). No entanto, parte do ácido clorogénico (cerca de 50%) ingerido é convertido em ácido hipúrico no cólon, após ação dos microrganismos aí existentes (Olthof *et al.*, 2003). As catequinas são igualmente absorvidas em grande quantidade no intestino delgado (Tarko *et al.*, 2009), local onde também são absorvidos outros compostos, como por exemplo epicatequinas e procianidinas B2 (Lee *et al.*, 2003).

No que concerne aos glicosídeos dos flavonóides, estes sofrem a ação das hidrolases gastrointestinais e as suas agliconas são libertadas, sendo posteriormente absorvidas no intestino grosso (Lee *et al.*, 2003) – muito embora em níveis baixos –, dado que cerca de 43% são excretados pela urina (Boyer & Liu, 2004). O ácido gálico é considerado o polifenol que regista a taxa de absorção mais elevada em maçãs, seguido pelas catequinas e glucosídeos de quercetina, enquanto os polifenóis menos absorvidos são as procianidinas e as antocianinas (Boyer & Liu, 2004).

De acordo com o trabalho realizado por (Cilla *et al.*, 2009), os compostos fenólicos mais complexos são encontrados na forma original após a digestão, muito embora em quantidades menores, em resultado de uma perda aproximada de 47% dos polifenóis ocorrida durante a digestão gastrointestinal. Outros dados extraídos deste estudo indicam que o teor de ácidos hidroxinâmicos diminui 37% após digestão – com os ácidos neoclorogénico e clorogénico a decrescerem 68% e 53%, respetivamente –, comparando com as amostras iniciais não digeridas. No que concerne às flavonas, parece ocorrer uma redução da ordem de 38%, com a hesperidina a assumir a maior queda na ordem dos 50%, e nos flavano-3-ol observa-se um decréscimo de 64%.

1.1.5. Processos de oxidação

As reações de oxidação são fundamentais para a produção da energia necessária aos processos biológicos dos organismos vivos. Reações químicas de oxidação e redução de moléculas ocorrem em todas as células, em resultado do metabolismo normal do organismo, e produzem constantemente, e por vezes em excesso, subprodutos oxidantes, nomeadamente espécies reativas de oxigénio (ROS), incluindo o anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o radical hidroxilo ($HO\bullet$), o radical peroxilo ($ROO\bullet$) e o radical alcóxido ($RO\bullet$), e espécies reativas de azoto (RNS). Estes compostos reativos danificam extensivamente o ADN, as proteínas e os lípidos, e são os principais promotores de efeitos patológicos ou degenerativos decorrentes do *stress* oxidativo, designadamente envelhecimento, cancro, doenças coronárias, Alzheimer, diabetes, desordens neurodegenerativas, aterosclerose (oxidação das LDL), enfraquecimento do sistema imunitário, cataratas (através da oxidação das proteínas do cristalino) e estados inflamatórios (Babbar *et al.*, 2011; Boyer & Liu, 2004; Guo *et al.*, 2003; knekt *et al.*, 2002; Ames *et al.*, 1993). Estima-se que só o ADN humano seja alvo de cerca de 10 mil ocorrências oxidativas, por dia e por célula (Ames *et al.*, 1993).

Estes efeitos nocivos são essencialmente exercidos por radicais livres, que são compostos químicos capazes de existir de forma independente, e de possuir um ou mais eletrões desemparelhados. Os radicais livres biológicos são, portanto, moléculas pró-oxidantes muito instáveis que têm à disposição eletrões para reagir com variados substratos orgânicos. A presença de radicais livres e de moléculas oxidantes não radicalares, derivadas de radicais livres (Tabela 1.2) são perigosas para os organismos vivos, devido à sua habilidade para danificar os organelos celulares. O monóxido de azoto (NO), os aniões superóxido e espécies reativas de oxigénio (ROS) e de azoto (RNS), também desempenham um papel importante na sinalização de alguns processos celulares (Somogyi *et al.*, 2007).

Tabela 1.2. Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) e de Azoto (RNS) (adaptado de Somogyi *et al.*, 2007).

Espécies Reativas de Oxigénio (ROS)				Espécies Reativas de Azoto (RNS)			
Radicais Livres		Não-radicais					
Hidroxilo	$OH\bullet$	Peroxinitrito	$ONOO^-$	Óxido nitroso	N_2O	Catião nitrosilo	NO^+
Superóxido	$O_2^{\bullet-}$	Ácido hipocloroso	$HOCl$	Peroxinitrito	$OOHO^-$	Dióxido de azoto	$NO_2\bullet$
Óxido nítrico	$NO\bullet$	Peróxido de hidrogénio	H_2O_2	Ácido peroxinitroso	$ONOOH$	Trióxido de Dinitrogénio	N_2O_3
Alquiltiilo	$RS\bullet$	Oxigénio singleto	1O_2	Anião nitroxilo	NO^-	Ácido nitroso	HNO_2
Peroxilo	$RO_2\bullet$	Ozono	O_3	Cloreto de nitrilo	NO_2Cl		
		Peróxido Lípidico	$LOOH$				

Os polifenóis possuem uma grande capacidade para reagir com radicais livres, formando radicais estáveis devido, sobretudo, à sua estrutura química constituída por pelo menos um anel aromático com grupos hidroxilo (Soares *et al.*, 2008), o que lhes confere grande importância biológica.

Alguns fenólicos das maçãs, sobretudo os compostos ácido clorogénico e (+)-catequina, têm demonstrado ser espécies muito ativas, nomeadamente, na inibição da nistrosação/nitração e na promoção da biodisponibilidade de monóxido de azoto (*NO) a nível gástrico, facto que, para além de expressar uma atividade antimicrobiana e aumentar a mobilidade gástrica, a produção de muco e o fluxo sanguíneo ao nível das mucosas, pode também contribuir para a proteção do organismo contra a neoplasia epitelial na junção gastroesofágica (Peri *et al.*, 2005).

1.1.6. Propriedades bioativas das maçãs

As doenças cardiovasculares e o cancro estão entre as patologias mais prevalentes na maioria dos países industrializados e têm sido relacionadas com os estilos de vida adotados. A dieta constitui um dos fatores de risco de cancro e de doenças cardiovasculares identificados, e porventura um dos mais importantes (Boyer & Liu, 2004; Riboli & Norat, 2003; Willet, 1995; Doll & Peto, 1981). Outros fatores incluem o tabaco (Miller *et al.*, 2004), o álcool, a exposição excessiva à luz solar, o sedentarismo, o excesso de peso e a obesidade, a exposição ocupacional e as infeções crónicas (Boyle & Levin, 2008). Estima-se que mais de 70% dos acidentes vasculares cerebrais e cancros, 80% das doenças cardiovasculares e 90% da taxa de diabetes tipo 2 poderiam ser evitados, caso fossem adotados estilos de vida e dieta adequados, que contemplassem o consumo abundante de frutos e vegetais (Willet, 2002).

O consumo regular destes alimentos pode contribuir para a prevenção de um vasto número de patologias que degradam a saúde e aumentam as despesas que lhe estão associadas. Segundo dados da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico), os gastos com a saúde em Portugal têm vindo a aumentar de ano para ano, tendo atingido 10,7% do PIB em 2010, o que representa um gasto de 2.113 euros *per capita*/ano (OCDE, 2012a; OCDE, 2012b). Tendo em conta que grande parte destes gastos resulta do tratamento de problemas decorrentes de más práticas alimentares, a necessidade de aumentar o consumo de vegetais e de frutos, nomeadamente de maçãs, ganha maior legitimidade.

De facto, vários estudos têm demonstrado os efeitos protetores do consumo de frutos e vegetais contra uma série de doenças, nomeadamente diferentes tipos de cancro (Duijnhoven *et al.*, 2009; Kirsh *et al.*, 2007; Weikert *et al.*, 2006; Smith-Warner *et al.*, 2001; Feskanich *et al.*, 2000; Gandini *et al.*, 2000), doenças cardiovasculares (Dauchet *et al.*, 2006; Appel *et al.*, 1997), diabetes (Song *et al.*, 2005; Willet, 2002), Alzheimer (Qai *et al.*, 2006), asma (Romieu *et al.*,

2013; Knekt *et al.*, 2002; Willet, 2002), cataratas (Boyer & Liu, 2004; Jacques & Chylack, 1991) e artrite (Kaur & Kapoor, 2001), sugerindo que estes efeitos protetores se devem à presença de diversos fitoquímicos como os carotenóides, os flavonóides, as isoflavonas e os ácidos fenólicos (Malin *et al.*, 2003; Woods *et al.*, 2003; Halvorsen *et al.*, 2002; Willet, 2002; Joshupura *et al.*, 2001; Ames, 1993). Outros estudos sugerem que estes compostos possuem um papel importante na regulação da resposta inflamatória e imune, e na proteção contra a oxidação lipídica (Liu, 2003; Hollman & Katan, 1997), e que os flavonóides são possivelmente os compostos responsáveis por grande parte dos efeitos biológicos imputados ao consumo destes alimentos, incluindo ações antibacterianas, antivirais, anti-inflamatórias, antialérgicas, antitrombóticas e vasodilatadoras, bem como inibição da peroxidação lipídica, agregação plaquetária, permeabilidade e fragilidade capilar (Velioglu *et al.*, 1998; Cook & Samman, 1996).

No que respeita às maçãs, em particular, sabe-se que constituem uma das principais fontes de fitoquímicos na dieta humana e que possuem uma complexa mistura de compostos bioativos com ações benéficas para a saúde, que parecem não se dever apenas à soma da contribuição dos diferentes componentes, mas também ao resultado de sinergias estabelecidas entre si (Serra *et al.*, 2010a; Liu, 2003). Estes efeitos observam-se por exemplo entre os polifenóis (Lee *et al.*, 2003), que são em grande parte os principais responsáveis pelos efeitos bioativos atribuídos às maçãs (Babbar *et al.*, 2011; Ćetković *et al.*, 2008; Boyer & Liu, 2004).

Tal como anteriormente aludido, existem evidências epidemiológicas de que o consumo de maçãs contribui para a melhoria do estado de saúde, reduzindo o risco de algumas doenças, nomeadamente doenças cardiovasculares (Salgado *et al.*, 2008; Hung *et al.*, 2004; Boyer & Liu, 2004; Joshupura *et al.*, 2001) – atuando na prevenção da obstrução vascular (Cieślik *et al.*, 2006), exercendo atividade na prevenção da oxidação das LDL e de outros lípidos presentes na corrente sanguínea (Cieślik *et al.*, 2006; Cook & Samman, 1996; Salgado *et al.*, 2008; Leontowicz *et al.*, 2002) – designadamente na redução do colesterol total, do colesterol LDL e dos triglicéridos – e aumentando os níveis séricos de colesterol HDL e diminuindo a agregação plaquetária (Salgado *et al.*, 2008; Kris-Etherton *et al.*, 2002). Têm também sido observados efeitos positivos do consumo de maçãs em algumas formas de cancro (Gerhauser, 2008; Linseisen *et al.*, 2007; W.C.R.F./A.I.C.R., 2007; Knekt *et al.*, 2002; Feskanich *et al.*, 2000; Marchand *et al.*, 2000; Boyer & Liu, 2004; Knekt *et al.*, 1997; Hertog *et al.*, 1994), asma e outras doenças pulmonares (Boyer & Liu, 2004; Knekt *et al.*, 2002), diabetes (Boyer & Liu, 2004; Knekt *et al.*, 2002), obesidade (Gerhauser, 2008; Boyer & Liu, 2004) e estados inflamatórios, como por exemplo a artrite reumatóide (Gerhauser, 2008; Cieślik *et al.*, 2006; Liu, 2003).

1.1.6.1. Carotenóides

Os carotenóides são um grupo de pigmentos solúveis em gordura, especialmente abundantes em vegetais de folha com cor verde e em frutos de coloração amarela/laranja, e que possuem diversas funções, das quais a mais conhecida é a atividade como pró-vitamina A (Maiani *et al.*, 2009; Malin, 2003).

Diversos estudos epidemiológicos têm encontrado uma relação entre a ingestão de carotenóides e a proteção contra várias doenças crônicas (Yano *et al.*, 2005), nomeadamente reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (Ness Powles, 1997; Gaziano *et al.*, 1995), inibindo a formação de determinados tipos de cancro (Malin, 2003; Ziegler, 1991), protegendo contra a formação de cataratas, contra deficiências de vitamina A – frequentemente fatais (particularmente em crianças em países em desenvolvimento) –, contra queimaduras solares, e melhorando a função imunitária (Maiani *et al.*, 2009).

Os frutos de grande consumo, nomeadamente maçã, uva, limão, pera, morango, kiwi, cereja, ananás e banana, possuem baixos teores de carotenóides (Yano *et al.*, 2005), sobretudo quando comparados com outras fontes alimentares, como por exemplo batata-doce, fígado de vaca, espinafres ou cenoura (USDA, 2011; INSA, 2006; Heinone *et al.*, 1989; Lessin *et al.*, 1997). A maçã possui entre 13,0 µg/100 g PF (Dias *et al.*, 2009) e 143,0 µg/100 g PF (Hart & Scott, 1995) de carotenóides, enquanto a batata-doce possui 8516 µg/100 g PF (USDA, 2011) e a cenoura 8430 µg/100 g PF (Heinone *et al.*, 1989). Os principais carotenóides presentes em maçãs são o β -Caroteno e a luteína (Setiawan *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2007).

1.1.6.2. Atividade antioxidante

Os antioxidantes são compostos que, mesmo em baixas concentrações, inibem ou atrasam a oxidação de outras moléculas (Velioglu *et al.*, 1998; Somogyi *et al.*, 2007; Pokorny *et al.*, 2001), prevenindo a sua auto-oxidação ou a oxidação mediada por radicais livres, e quando oxidados podem rearranjar-se para dar origem a produtos estáveis (Soares *et al.*, 2008).

Numa célula normal, existe um adequado equilíbrio entre compostos pro-oxidantes e antioxidantes. Quando este balanço é alterado a favor dos compostos pro-oxidantes, inicia-se um processo de agressão ao organismo, denominado *stress* oxidativo. O *stress* oxidativo pode ser desencadeado por dois mecanismos: baixa concentração de espécies antioxidantes ou presença de um elevado número de espécies reativas de oxigénio/azoto/carbono (Somogyi *et al.*, 2007).

Como resposta à ação dos radicais livres, o organismo humano possui um complexo sistema antioxidante que inclui compostos enzimáticos e não-enzimáticos, e que confere às células uma capacidade importante, mas limitada, para se proteger de danos biológicos infligidos às suas moléculas, nomeadamente ao ADN, aos lípidos e às proteínas (Van der Sluis *et al.*, 2001). Este sistema antioxidante conta essencialmente com as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GSHPx) e catalase, e com compostos não enzimáticos tais como a albumina, ceruloplasmina (ferroxidase) e ferritina – bem como pequenas moléculas como as vitaminas C e E, β -caroteno e diversos fitoquímicos (Guo *et al.*, 2003). Estes antioxidantes naturais presentes nos alimentos protegem o organismo contra os danos provocados por espécies reativas de oxigénio, para além de possuírem a capacidade de formar complexos com metais, nomeadamente com o ferro, o cobre, o zinco, o chumbo e o antimónio, facilitando assim a sua excreção (Cieřlik *et al.*, 2006).

Para que um determinado composto possa ser considerado antioxidante e possa exercer o seu papel biológico é necessário que, mesmo quando presente em baixas concentrações, seja capaz de impedir, retardar ou prevenir a auto-oxidação ou a oxidação mediada por radicais livres, e que o produto da sua reação com os radicais livres seja estável. Ora os polifenóis possuem a capacidade de reagir com radicais livres, formando radicais estáveis devido, sobretudo, à sua estrutura química constituída por pelo menos um anel aromático com agrupamentos hidroxilos, o que lhes permite estabilizar eletrões desemparelhados e eventualmente rearranjar-se de forma a assumir uma estrutura neutra (Soares *et al.*, 2008),

Para melhorar a resposta do organismo é, pois, extremamente importante ingerir uma dieta rica em frutos e vegetais, uma vez que estes alimentos veiculam uma grande quantidade de compostos antioxidantes altamente reativos (Cheynier, 2005), entre os quais os flavonóides (Boyer & Liu, 2004), com potencialidade para protegerem o organismo humano dos efeitos de espécies químicas capazes de danificar e provocar mutações no ADN e que são o subproduto da respiração, ou que resultam da resposta inflamatória ou do metabolismo de xenobióticos (Collins, 2005). Neste domínio, a maçã parece dar um contributo muito importante, dado que o seu consumo influencia positivamente o potencial antioxidante do plasma e apresenta, para além de outros efeitos, uma ação hipocolesterémica, mesmo quando incluída numa dieta rica em colesterol, (Leontowicz *et al.*, 2002).

A maçã é, justamente, de entre os frutos mais consumidos em Portugal (maçã, laranja, pera, uva e pêssago), aquele que revela uma atividade antioxidante mais significativa (Sun *et al.*, 2002). Dependendo da técnica utilizada e das variedades e porções analisadas, os valores de atividade antioxidante disponíveis na bibliografia oscilam entre 136,0 mg VCEAC/100 g PF (DPPH) (Kim *et al.*, 2002) e 833,9 mg CEAC/100 g PF (Imeh & Khokhar, 2002) (FRAP) para o fruto inteiro; 82,9 mg AEAC/100 g PF (DPPH) (Petkovšek *et al.*, 2007) e 970,56 mg VCEAC/100 g PF (DPPH) (Vieira *et al.*, 2009) para a casca; e entre 23,6 mg AEAC /100 g PF

(DPPH) (Petkovšek *et al.*, 2007) e 223,06 mg VCEAC/100 g PF (DPPH) (Vieira *et al.*, 2009) para a polpa.

No que concerne à capacidade antioxidante total das maçãs, os flavonóis, os flavanóis e as procianidinas (que somam 90% da atividade) são os principais contribuintes na casca, enquanto no caso da polpa esse papel fica assegurado sobretudo pelos flavanóis e hidroxicinamatos (Chinnici *et al.*, 2004b).

1.1.6.2.1. Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes, quer sejam eles de origem natural (e.g., compostos fenólicos, tocoferóis, alcalóides, derivados de clorofila, aminoácidos, carotenóides e ácido ascórbico) ou sintética (e.g., compostos com estruturas fenólicas de variados graus de substituição por grupos alquilo), são ativamente utilizados nas indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética (Babbar *et al.*, 2011; Report on Carcinogenes, 2010; Velioglu *et al.*, 1998; Stolze, 1999).

No entanto, como a passagem do tempo tem provado, não é indiferente empregar antioxidantes naturais ou sintéticos, dado que se sabe atualmente que alguns dos antioxidantes sintéticos mais utilizados nestas indústrias, entre os quais o butilhidroxianisole (BHA) (E320), o butilhidroxitolueno (BHT) (E321) e o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (E319), parecem desempenhar ações promotoras da carcinogênese (Babbar *et al.*, 2011; Report on Carcinogenes, 2010; Velioglu *et al.*, 1998; Stolze, 1999). Existe, por esta razão, um grande potencial na utilização de antioxidantes naturais extraídos de frutos e plantas como substitutos dos antioxidantes sintéticos (Hayouni *et al.*, 2007).

1.1.6.3. Atividade antimutagénica e antiproliferativa

O cancro é um dos maiores flagelos com que a humanidade se vem deparando, sendo responsável por enormes e crescentes despesas de saúde resultantes das fases de diagnóstico, tratamento e cuidados paliativos, e assume-se simultaneamente como uma das principais causas de morte mundialmente conhecidas (Parkin *et al.*, 2002).

O Relatório de Cancro, apresentado em 2008 pela *International Agency for Research on Cancer*, da Organização Mundial de Saúde, estima que sejam diagnosticados anualmente cerca de 12 milhões de casos de cancro, que provocam 7 milhões de mortes em todo o mundo. As perspetivas para o futuro são ainda menos animadoras, antecipando-se uma previsão de 27 milhões de novos casos para 2030 e da ocorrência de 17 milhões de mortes anuais (Boyle & Levin, 2008).

Uma dieta alimentar saudável, que inclua regularmente porções de frutos e vegetais, pode prevenir 20 a 42% da maioria dos câncros diagnosticados (Willet, 1995; Chun *et al.*, 2005; Doll & Peto, 1981). Uma conclusão semelhante é apresentada pelos organismos *American Institute for Cancer Research* e pelo *World Cancer Research Fund*, que estimam que 30-40% de todos os câncros poderiam ser prevenidos através da adoção de dietas adequadas, realização de atividade física e manutenção de um peso apropriado (Donaldson, 2004).

Em 1997, o *World Cancer Research Fund* concluiu que existem evidências conclusivas de que o elevado consumo de vegetais diminui o risco do cancro da boca e faringe, esôfago, pulmão, estômago, cólon e reto; reduz, provavelmente, o risco de cancro da laringe, pâncreas, mama, e bexiga; e que possivelmente reduz o risco de cancro do fígado, ovário, endométrio, próstata, tireoide e rim. No que respeita ao consumo de frutos, foi concluído que atuam na redução do risco da maioria dos câncros anteriormente mencionados, com a exceção dos câncros da próstata (Key *et al.*, 2004), do fígado, do rim, do cólon e do reto, para os quais os dados existentes à data foram considerados limitados ou inconsistentes (W.C.R.F./A.I.C.R., 2007). Em 1998, o grupo de peritos reunidos pelo *Chief Medical Officer's Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy of the United Kingdom* (COMA) chegou a uma conclusão semelhante (Riboli & Norat, 2003). O *World Cancer Research Fund* reunido em 2007 decidiu, por isso, baixar a referência à força da associação inversa entre o consumo de fruta e vegetais e o risco global do cancro, seguindo os passos da *International Agency for Research on Cancer* (IARC), que em 2003 a reclassificara como “limitada” para a maioria dos câncros (Boffetta *et al.*, 2010).

Pese embora esta reclassificação, a maçã continua a ser estudada e apontada como uma importante fonte natural de compostos com propriedades antimutagénicas e antiproliferativas, nomeadamente em relação ao cancro do fígado (Sun *et al.*, 2002), sobretudo devido à ação demonstrada pela casca do fruto na inibição da proliferação das células cancerígenas, que é muito superior ao efeito demonstrado pela polpa (He & Liu, 2008; Wolfe *et al.*, 2003b; Liu *et al.*, 2001). Também lhe é reconhecido um efeito protetor relativamente ao cancro do pulmão (Linseisen *et al.*, 2007; Feskanich *et al.*, 2000), sendo estimada uma diminuição do risco em cerca de 40-50%, provavelmente devido ao elevado teor de flavonóides e de quercetina deste fruto (Marchand *et al.*, 2000; Knekt *et al.*, 1997). Arts *et al.* (2001) estabeleceram uma outra relação inversa com este tipo de cancro, desta feita em relação ao consumo de catequinas provenientes do consumo de chá e de maçãs. Neste estudo, que ficou conhecido por *Zuthphen Elderly Study*, ficou demonstrado existir uma associação entre o consumo de maçãs e a diminuição da incidência do cancro do pulmão. Por outro lado, um outro trabalho efetuado por Knekt e colaboradores (Knekt *et al.*, 2002) mostrou ainda que o consumo de catequinas totais provenientes do chá não produzia efeitos neste tipo de cancro. No entanto, as catequinas e as epicatequinas das maçãs parecem ser, pelo menos, parcialmente responsáveis pela atividade antiproliferativa, nomeadamente de células leucémicas HL-60 humanas, comprovando que a

atividade antiproliferativa atribuída a este fruto está mais relacionada com estes compostos do que com outros polifenóis, como por exemplo as antocianinas (Yoshizawa *et al.*, 2005).

De entre todos os compostos presentes em maçãs, os flavonóides são possivelmente os principais responsáveis pela redução dos riscos associados ao *stress* oxidativo e ao cancro (Veeriah *et al.*, 2006; Knekt *et al.*, 2002). A quercetina, um dos constituintes que contribuem para o aporte de flavonóides das maçãs, foi caracterizada pelo *American Institute for Cancer Research* como sendo um composto que inibe diretamente a expressão do CYP1A1 (uma enzima envolvida na metabolização de hidrocarbonetos aromáticos transformando-os em produtos carcinogénicos), resultando no decréscimo dos danos provocados ao ADN (W.C.R.F./A.I.C.R., 2007). Para além dos compostos já mencionados, outros, como por exemplo a quercetina-3-O- β -glucopiranosídeo, o ácido cafeico (He & Liu, 2008), as procianidinas (B1 e B2) e a floridzina, têm vindo igualmente a ser associados aos efeitos benéficos na redução do risco do cancro (Serra *et al.*, 2010a). Todavia, a eficácia para inibir o crescimento celular dos compostos fenólicos parece estar mais relacionada com os efeitos sinérgicos que existirão entre si, do que propriamente com um ou outro composto isolado. Foi exatamente esta a conclusão apresentada por Mari *et al.* (2010). Segundo este estudo, que consistiu em separar por HPLC amostras da variedade *Annurca* em duas frações distintas (fração A: ácido clorogénico, flavanóis, cianidina-3-O-galactosídeo e procianidinas; fração B: flavonóis e dihidrochalconas) – caracterizadas por uma diferente composição de polifenóis –, e usá-las separadamente para testar a sua eficácia para inibir o crescimento celular. O estudo concluiu que a fração A (citotoxicidade de 19%), rica em ácido clorogénico, flavanóis e procianidinas, se mostrou menos eficaz na diminuição da viabilidade celular do que a fração B (citotoxicidade de 48%), predominantemente representada por flavanóis e dihidrochalconas. Este estudo mostrou ainda que o somatório destas percentagens corresponde aproximadamente ao valor da mortalidade celular induzido pelo extrato de maçã *Annurca* em células HL-60, demonstrando que estas duas frações são responsáveis pela quase totalidade da atividade biológica do extrato desta variedade de maçã. A presença de moléculas ativas na fração B, nomeadamente quercetina, pode explicar a maior citotoxicidade desta fração. No entanto, quando testados os compostos individuais presentes na fração B, incluindo a quercetina, não foi detetada qualquer toxicidade, à concentração medida no extrato total. Esta observação suporta a ideia de efeitos sinérgicos das moléculas presentes no extrato. Baseado neste conceito, concentrações baixas de diversos compostos bioativos (que ocorrem normalmente nos alimentos) podem ser mais eficazes na prevenção de doenças do que moléculas isoladas tomadas em concentrações comparáveis.

1.1.6.4. Atividade anti-inflamatória

A atividade inflamatória é um processo complexo que envolve uma série de mediadores, entre os quais as prostaglandinas, que são mediadores endógenos da inflamação semelhantes a hormonas, formados a partir do ácido araquidónico pelas enzimas ciclooxigenase 1 (Cox-1) e a forma induzida ciclooxigenase 2 (Cox-2), sobretudo esta última, que está associada à produção de prostaglandina E2 (PGE2), um mediador de processos inflamatórios e que se encontra frequentemente elevada nos tecidos cancerígenos. A produção excessiva de prostaglandinas parece provocar danos celulares – e, no limite, levar à carcinogénese pela inibição da apoptose (morte celular programada). Estes metabolitos estão também associados à estimulação da proliferação celular, formação de novos vasos sanguíneos (angiogénese) e dispersão tumoral. Ora tem sido demonstrado que a (-)- epicatequina da maçã possui a capacidade de inibir a atividade da Cox-1 em cerca de 50% e que os polifenóis em geral encontrados no fruto revelam a aptidão de reduzir significativamente a expressão mediada pelo NF- κ B (factor kappa-B), fator que contribui para o processo inflamatório, nomeadamente através da indução de enzimas proinflamatórias, incluindo a Cox-2 (Gerhauser, 2008). Tem sido igualmente evidenciado que os flavonóides das maçãs são capazes de inibir as enzimas óxido nítrico sintase (iNOS) e ciclooxigenase (Cox-2), bem como outros mediadores do processo inflamatório, tal como a proteína C reativa ou moléculas de adesão (González-Galego *et al.*, 2007).

Assim, sendo a maçã um fruto com um elevado teor de flavonóides, entre os quais a quercetina, o seu consumo deverá contribuir para inibir as enzimas que ativam a carcinogénese e reduzir os danos gerados pelos radicais livres durante os processos de inflamação (W.C.R.F./A.I.C.R., 2007).

1.1.6.5. Atividade antimicrobiana

O aparelho digestivo humano é colonizado por um vasto conjunto de microrganismos, que pode totalizar mais de 40.000 espécies de bactérias. Estes microrganismos têm funções importantes na decomposição da matéria orgânica e são, na sua maioria, benéficos e inofensivos. Todavia, o organismo humano pode a qualquer momento ser infetado por espécies de bactérias patogénicas, situação que pode exigir tratamento com recurso a antibióticos. É o caso da *Helicobacter pylori*, um agente patogénico que infeta mundialmente cerca de 30% de crianças e 60% de adultos, e é responsável por doenças como a gastrite, a úlcera péptica e o cancro gástrico. O tratamento contra a *H. pylori* é baseado no uso de antibióticos (tetraciclina, amoxicilina, imidazole (metronidazole ou tinidazol) e macrolídeos (clarithromicina ou azitromicina)). Todavia, o insucesso da terapia pode chegar aos 20%, essencialmente devido ao aumento da prevalência de resistência da bactéria aos antibióticos, situação que tem conduzido à procura de terapias alternativas (Vítor & Vale, 2011). A *H. pylori* faz uso da sua

capacidade de produzir urease, para colonizar a mucosa gástrica. A amónia gerada neutraliza a acidez gástrica e, como tal, promove, no interior do aparelho digestivo, um microambiente neutro em torno da bactéria (Pastene *et al.*, 2009) que facilita a sua sobrevivência e propagação.

Apesar de em número reduzido, alguns estudos têm demonstrado que a maçã *Golden delicious* pode auxiliar no tratamento da infeção por *H. pylori* e por outros microrganismos. Molnár e coautores mostraram que os extratos de carotenóides da casca de maçãs da variedade *Golden Delicious* possuem uma ação mais potente contra a bactéria *H. pylori* (MIC₅₀ = 36 µg/mL) do que o antibiótico metronidazol (MIC₅₀ = 45 µg/mL), sobretudo devido à ação da luteoxantina, da (all-*E*)-neoxantina e da (9'*Z*)-neoxantina provenientes das três variedades estudadas (*Red Paprika*, *Valencia Orange* e *Golden delicious*) (Molnár *et al.*, 2005; Molnár *et al.*, 2010). As variedades *Royal Gala* e *Granny Smith* demonstraram possuir igualmente uma atividade antimicrobiana importante contra diversos microrganismos, devido ao seu elevado teor de polifenóis, nomeadamente contra algumas estirpes de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* e *Listeria monocytogenes* (Alberto *et al.*, 2006). Conclusão muito semelhante foi obtida pelo trabalho de Pastene e colaboradores que demonstraram que os polifenóis da variedade *Granny Smith* reduzem a probabilidade de sobrevivência da *H. pylori* (Pastene *et al.*, 2009).

1.2. OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE

A maçã é um dos frutos mais apreciados pelos consumidores, razão que tem conduzido a que nas últimas décadas se tenha instalado uma crescente demanda pela combinação perfeita entre o aumento da produtividade, a atratividade do fruto, o seu sabor e a sua segurança. Maçãs contendo imperfeições na sua forma, ou sendo dotadas de calibres considerados desadequados pelos operadores comerciais, são desviadas para o processamento industrial, nomeadamente para a produção de sumos e compotas. Por outro lado, a produção de maçãs é uma atividade sazonal, só justificada em casos de rentabilidade produtiva elevada e que possui necessidades específicas de conservação. Para além do referido, as macieiras encontram-se sujeitas à ação de variações climatéricas constantes e ao ataque de pragas, fatores que justificam a opção dos fruticultores por variedades que são à partida mais rentáveis ou que, pelo menos, constituem um valor seguro. As variedades tradicionais gozam, pois, de uma margem de manobra muito reduzida para poderem singrar no competitivo mercado comercial e concorrencial.

Este trabalho tem exatamente como objetivos proceder à caracterização das propriedades nutricionais, físico-químicas e funcionais de um diverso número de variedades tradicionais de maçãs portuguesas – em comparação com algumas das variedades exóticas mais consumidas em Portugal – e prestar um contributo para a valorização das variedades tradicionais, concorrendo para a dinamização da sua produção e implantação no mercado.

Pretende-se ainda produzir novos dados de carácter químico e funcional para variedades que nunca foram avaliadas nesta perspetiva e corroborar alguns estudos anteriores, também focados na análise da composição e propriedades de algumas variedades tradicionais de maçãs portuguesas.

A tese encontra-se estruturada em capítulos organizados da seguinte forma:

- **Capítulo 1:** Introduz de forma sumária a perspetiva histórica da proveniência da maçã e da sua introdução na Europa, apresenta dados relativos à produção e ao consumo deste fruto, e aborda os benefícios para a saúde do consumo de frutos em geral, e de maçãs em particular, resultantes das suas ações funcionais. Apresenta ainda informação genérica sobre a ocorrência de polifenóis em maçãs e o contributo destes compostos para as atividades biológicas destes frutos.
- **Capítulo 2:** Caracteriza as propriedades físico-químicas e nutricionais de 17 variedades de maçãs incluídas neste estudo: 11 variedades tradicionais portuguesas (*Camoesa da Azoia, Maçã Cunha, Maçã Branca, Casa Nova de Alcobça, Maçã Espelho, Pardo Lindo, Maçã Verdeal, Querina, Pipo de Basto, Porta da Loja e Bravo de Esmolfe*) e 6 cultivares exóticas (*Reineta Parda, Royal Gala, Starking, Jonagold, Golden Delicious e Fuji*). Neste capítulo são apresentados os resultados da execução

de várias metodologias com vista à caracterização das diversas variedades quanto à sua composição mineral e teor de humidade, cinzas, azoto, fósforo, açúcares, acidez e fibras.

- **Capítulo 3:** Avalia a atividade antioxidante de todas as variedades de maçãs estudadas mediante a determinação do teor de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu, do teor de carotenóides totais por espectrofotometria, da atividade antirradicalar (sequestração do radical DPPH) e da atividade antioxidante de redução férrica (FRAP).
- **Capítulo 4:** Compreende a determinação do perfil de compostos fenólicos da polpa e da casca das maçãs estudadas, efetuando a sua extração, separação por extração em fase sólida e separação por cromatografia líquida de alta resolução utilizando um detetor de vetor de díodos (HPLC-DAD). Alguns dos compostos predominantes foram ainda quantificados através de retas de calibração construídas com padrões autênticos.
- **Capítulo 5:** Correlaciona os resultados obtidos nos capítulos anteriores quanto às diferentes variedades estudadas e procede à discussão geral dos resultados apurados na perspetiva de cada variedade de maçã individual e relativamente ao grupo das maçãs exóticas e das maçãs tradicionais.
- **Capítulo 6:** Apresenta as conclusões gerais desta tese e as propostas para trabalhos futuros.

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aaby, K., Haffner, K. & Skrede, G. (2002). Aroma quality of Gravenstein apples influenced by regular and controlled atmosphere storage. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35:254-259, doi:10.1006/fstl.2001.0852.
2. Alberto, M., Canavosio, M., & Manca de Nadra, M. (2006). Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(3):205-209, ISSN:0717-3458.
3. Ames, B., Shigenaga, M., & Hagen, T. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 90:7915-7922.
4. Appel, L., Moore, T., Obarzanek, E., Vollmer, W., Svetkey, L., Sacks, F., Bray, G., Vogt, T., Cutler, J., Windhauser, M., Lin, PH, & Karanja, N. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *Journal of Medicine*, 336(16):1117-1127.
5. Arts, I., Hollman, P., Mesquita, H., Feskens, E., & Kromhout, D. (2001). Dietary catechins and epithelial cancer incidence: The Zutphen elderly study. *Int. J. Cancer*, 92:298-302.
6. Babbar, N., Oberoi, H., Uppal, D., & Patil, R. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, 44:391-396, doi:10.1016/j.foodres.2010.10.001.
7. Bender, R., & Lunardi, R. 2001. Perdas qualitativas de maçãs cv. Gala em armazenamento refrigerado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, 23(3):5, ISSN 0103-8478.
8. Bhatti, S., & Jha, G. (2010). Current trends and future prospects of biotechnological interventions through tissue culture in apple. *Plant Cell Repor*, 29:1215-1225, doi: 10.1007/s00299-010-097-8.
9. Boffetta, P., Couto, E., Wichmann, J, Ferrari, P., Trichopoulos, D., Bueno-de-Mesquita, H., van Duijnhoove, F., Büchner, F., Key, T., Boeing, H., Nöthlings, U., Linseisen, J., Gonzalez, C., Overvad, K., Nielsen, M., Tjønneland, A., Olsen, A., Clavel-CHapelon, F., Boutron-Ruault, M., Morois, S., Lagiou, P., Naska, A., Benetou, V., Kaaks, R., Rohrmann, S., Panico, S., Sieri, S., Vineis, P., Palli, D., van Gils, C., Peeters, P., Lund, E., Brustad, M., Engeset, D., Huerta, J., Rodríguez, L., Sánchez, M., Dorronsoro, M., Barricarte, A., Hallmans, G., Johansson, I., Mankar, J., Sonestedt, E., Allen, N., Bingham, S., Khaw, K., Slimani, N., Jenab, M., Mouw, T., Norat, T., Riboli, E., & Trichopoulou, A. (2010). Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Journal of the National Cancer Institute*, 102(8):529-537, doi: 10.1093/jnci/djq072.

10. Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131:1466–1472, doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.030.
11. Boyer, J., & Liu, R. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3:1-15, doi: 10.1186/1475-2891-3-5.
12. Boyle, P., & Levin, B. (2008). *World Cancer Report (2008)*. Geneva: International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. ISBN 97 8 92 832 0423 7, 523 pp.
13. Brackmann, A., Mazaro, S., & Bortoluzzi, G. (1995). Qualidade da maçã “Fuji” sob condições de atmosfera controlada. *Ciência Rural*, Santa Maria, 25(2):215-218.
14. Brackmann, A., Mazaro, S., & Lunardi, R. (1998). Armazenamento da maçã cv. Golden delicious em atmosfera controlada com altas concentrações de CO₂ e ultra-baixas de O₂. *Ciência Rural*, Santa Maria, 28(2):215-219, ISSN 0103-8478.
15. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11):317-333, DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x.
16. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
17. Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Savatović, S., Mandić, A., & Tumbas, V. (2008). Assessment of polyphenolic content and *in vitro* antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347, doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.046.
18. Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(suppl):223S-229S.
19. Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004b). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:4684-4689.
20. Chinnici, F., Gaiani, A., Natali, N., Riponi, C., & Galassim, S. (2004a). Improved HPLC determination of phenolic compounds in cv. golden delicious apples using a monolithic column. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:3-7.
21. Chun, O., Kim, D., Smith, N., Schroeder, D., & Han, T. (2005). Daily Consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1715-1724, doi: 10.1002/jsfa.2176.
22. Cieřlik, E., Greda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 94:135-142, doi:10.1016/j.foodchem.2004.11.015.

23. Cilla, A., González-Sarriás, A., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & Barberá, R. (2009). Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 114: 813–820, doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.019.
24. Collins, A. (2005). Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *European Journal of Cancer*, 41:1923-1930, doi: 10.1016/j.ejca.2005.06.004.
25. Cook, N., & Samman, S. (1996). Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 7:66-76.
26. Dauchet, L., Amouyene, P., Hercberg, S., & Dallongeville, J. (2006). Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *The Journal of Nutrition*, 136(10):2588-2593.
27. Day, A. J., Canada, F. J., Diaz, J. C., Kroon, P. A., Mclauchlan, R., Faulds, C. (2000). Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters*, 468:166–170.
28. Dias, M.G., Camões, M., & Oliveira, L. (2009). Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113:808-815, doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.002.
29. Doll, R., & Peto, R. (1981). The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *Journal of the National Cancer Institute*, 66(6):1191-1308.
30. Donaldson, M. (2004). Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutrition Journal*, 3:19, 1-21, doi: 10.1186/1475-2891-3-19.
31. DRAPC (Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro) (2011). Lista das variedades regionais existentes na colecção da Estação Agrária de Viseu. Projecto Agro n.º 158, *in* http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/documentos/variedades_regionais_pomoideas_viseu.php.
32. Drogoudi, P., Michailidis, Z., & Pantelidis, G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115:149-153, doi: 10.1016/j.scienta.2007.08.010.
33. Duijnhoven, F., Bueno-de-Mesquita, H., Ferrari, P., Jenab, M., Boshuizen, H., Ros, M., Casagrande, C., Tønne, A., Olsen, A., Overvad, K., Thorlacius-Ussing, O., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M., Morois, S., Kaaks, R., Linseisen, J., Boie, H., Nöthlings, U., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Misirli, G., Palli, D., Sieri, S., Panico, S., Tumino, R., Vineis, P., Peeters, P., Gils, Carla, Ocké, M., Lund, E., Engeset, D., Skeie, G., Suárez, L., González, C., Sánchez, M., Dorronsoro, M., Navarro, C., Barricarte, A., Berglund, G., Manjer, J., Hallmans, G., Palmqvist, R., Bingham, S., Khaw, K., Dey, T., Allen, N., Boffeta, P., Slimani, N., Rinaldi, S., Gallo, V., Norat, T., & Riboli, E. (2009).

- Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89: 1-12, doi: 10.3948/ajcn.2008.27120.
34. Dupont, S., Bennet, R., Mellon, F., & Williamson, G. (2002). Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized, and excreted by humans. *Journal of Nutrition*, 132:72-175.
 35. Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., & Liu, R.H. (2000). Nutrition: antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405:903–904.
 36. Echeverría, G., Funes, T., Graell, J., Lara, I. & López, M. L. (2004). Aroma volatile compounds of "Fuji" apples in relation to harvest date and cold storage technology. A comparison of two seasons. *Postharvest Biology and Technology*, 32:29-44, doi: 10.1016/j.postharvbio.2003.09.017.
 37. EFSA (European Food Safety Authority). (2013). The 2010 European Union Report on Pesticide Residues in Food. *EFSA Journal* 11(3):3130, 808 pp., doi:10.2903/j.efsa.2013.3130.
 38. EU Pesticides Database. (2013). Directorate General for Health & Consumers. European Europe. © DG SANCO 2013, Application version: 1.9, Bruxelas, *in* http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/?event=homepage&CFID=781284&CFTOKEN=87384884&jsessionid=090463e39bd4f7d24dc05d477b3577259763TR (acedido a 15/11/2013).
 39. FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). Food Balance Sheets: Food supply quantity (kg/capita/yr). FAOSTAT. *In* <http://faostat.fao.org/site/368/DesktopDefault.aspx?PageID=368#ancor>.
 40. FCNAUP (Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto). (2003). A nova roda dos alimentos... um guia para a escolha alimentar diária: como bem, viva melhor!. Programa Operacional de Saúde XXI.
 41. Feliciano, R., Antunes C., Ramos, A., Serra, A., Figueira, M., Duarte, C., Carvalho, A., & Bronze, M. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods*, 2:35-45, doi: 10.1016/j.jff.2009.12.004.
 42. Ferree, D., & Warrington, I. (2003). Apples – Botany, production and uses. Cambridge: CAB International. ISBN: 0-85199-592-6, 660 pp.
 43. Feskanich, D., Ziegler, R., Michaud, D., Giovannucci, E., Speizer, F., Willett, W., & Colditz, A. (2000). Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:1812-1823.

44. Frighetto, R., Welendorf, R., Nigro, E., Frighetto, N., & Siani, A. (2008). Isolation of ursolic acid from apple peels by high speed counter-current chromatography. *Food Chemistry*, 106:767-771, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.06.003.
45. Gandini, S., Merzenich, H., Robertson, C., & Boyle, P. (2000). Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. *European Journal of Cancer*, 36:636-646.
46. Gaziano, J.M., Manson, J.E., Branch, L.G, Colditz, G.A., Willett, W.C., & Buring, J.E. (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of Epidemiology*, 5: 255–260.
47. Gerhauser, C. (2008). Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. *Planta Med*, 74:1608-1624, doi: 10.1055/s-0028-1088300.
48. González-Gallego, J., Sánchez-Campos, S., & Tuñón, M. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición Hospitalaria*, 22:287-293.
49. GPP (Gabinete de Planeamento e políticas). (2007). Sub-fileira: Maçã. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas, 17 pp.
50. Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23:1719-1726, doi:10.1016/j.nutres.2003.08.005.
51. Halvorsen, B., Holte, K., Myhrstad, M., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S., Wold, A., Haffner, K, Baugerød, Andersen, L., Moskaug, J., Jacobs, D., & Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*, 132:461-471.
52. Hamauzu, Y., Yasui, H., Inno, T., Kume, C., & Omanyuda, M. (2005). Phenolic profile, antioxidant property, and anti-influenza viral activity of chinese quince (*Pseudocarya siensis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:928-934.
53. Hart, D., & Scott, J. (1995). Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54:101-111.
54. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of *Tunisian quercuscoccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Fod Chemistry*, 105(3):1126-1134, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.02.010.
55. He, Xiangjiu, & Liu, R. H. (2008). Phytochemicals of apple peels: isolation, structure, elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:9905-9910, doi: 10.1021/jf8015255.

56. Heinonen, M., Ollilainen, V., Linkola, E., Varo, P.T., & Koivistoinen, P.E. (1989). Carotenoids in Finnish foods: Vegetables, fruits and berries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 37:655-659.
57. Hertog, M., Feskens, E., Hollman, P., Katan, M., & Kromhout, D. (1994). Dietary flavonoids and cancer risk in the Zutphen elderly study. *Nutrition and Cancer*, 22(2):175-184.
58. Holland, P. T., Hamilton, D., Ohlin, B., & Skidmore, M. W. (1994). Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *IUPAC Reports on Pesticides* (31). *Pure and Applied Chemistry*, 66(2), 335–356.
59. Hollman, P. C., de Vries, J. H., van Leeuwen, S. D., Mengelers, M. J., & Katan, M. B. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:1276-1282.
60. Hollman, P., & Katan, M. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonóides in man. *Biomed & Pharmacother*, 51:305-310.
61. Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(6):1841-1856.
62. Hung, H.C., Joshipura, K., Jiang, R., Hu, F., Hunter, D., Smith-Warner, S., Colditz, G., Rosner, B., Spiegelman, D., & Willet, W. (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(21):1577-1584, doi: 10.1093/jnci/djh296.
63. Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:6301-6306.
64. INE (Instituto Nacional e Estatística). (2011). Estatísticas agrícolas - 2011. Instituto Nacional e Estatística, Lisboa, ISBN: 0079-4139, 171 pp.
65. INE (Instituto Nacional e Estatística). (2012). Consumo humano de frutos *per capita* (kg/hab.) por espécie frutícola (balanços e mercado). Instituto Nacional de Estatística, in http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000163&contexto=bd&selTab=tab2.
66. INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge). (2006). Tabela da composição de alimentos (<http://www.insa.pt>). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, ISBN: 972-8643-19-5, 355 pp.
67. Jacques, P.F., & Chylack, L.T. (1991). Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53:352S-355S.

68. Joshipura, K., H., F., Manson, J., Stampfer, M., Rimm, E., Speizer, F., Colditz, G., Ascherio, A., Rosner, B., Spiegelman, D., & Willet, W. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of Internal Medicine*, 134(12): 1106-1114.
69. Juniper, B., & Mabberley, D. (2006). *The Story of the apple*. Portland: Timber Press Inc., ISBN-13: 9780881927849. ISBN-10: 0881927848, 219 pp.
70. Kader, A. (2003). Physiology of CA treated produce. *Acta Horticulturae*, 600:349-354.
71. Kader, A. (2010). Future of modified atmosphere research. *Acta Horticulturae*, 857:213-218.
72. Kahle, K., Huemmer, W., Kempf, M., Scheppach, W., Erk, T., & Richling E. (2007). Polyphenols are intensively metabolized in the human gastrointestinal tract after apple juice consumption. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:10605-10614.
73. Kahle, K., Kraus, M., Scheppach, W., & Richling, E. (2005b). Colonic availability of apple polyphenols – a study in ileostomy subjects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49:1143-1150, doi: 10.1002/mnfr.200500132.
74. Kaur, C., & Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(7):703-725, doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x.
75. Kauskik, G., Staya, S., & Naik, S.N. (2009). Food processing a tool to pesticide residue dissipation – A review. *Food Research International*, 42:26–40, doi:10.1016/j.foodres.2008.09.009.
76. Key, T., Allen, N., Appleby, P., Overvad, K., Tønneiland, A., Millher, A., Boeing, H., Karalis, D., Psaltopoulou, T., Berrino, F., Palli, D., Panico, S., Tumino, R., Vineis, P., Bueno-de-Mesquita, H., Kiemeneij, L., Quiros, J., Ardanaz, E., Berglund, G., Egevad, L., Hallmans, G., Stattin, P., Bingham, S., Day, N., Gann, P., Kaaks, R., Ferrari, P., & Riboli E. (2004). Fruits and vegetables and prostate cancer: no association among 1,104 cases in a prospective study of 130,544 men in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *International Journal of Cancer*, 109:119-124, doi: 10.1002/ijc.11671.
77. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., & DeEll, J. (2007b). Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(1):61-66, ISSN: 1459-0255.
78. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.

79. Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:3713-3717
80. Kim, D., Jeong, S., & Lee, C. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81:321-326.
81. Kim, Y., Giraud, D., & Driskell, J. (2007). Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20:458-465, doi: 10.1016/j.jfca.2007.02.001.
82. Kirsh, V., Peters, U., Mayne, S., Subar A., Chatterjee, N., Johnson, C., & Hayes, R. (2007). Prospective study of fruit and vegetable intake and risk of prostate cancer. *Oxford University Press*, 99:1200-1209, doi: 10.1093/jnci/djm065.
83. Kitts, DD. (1994). Bioactive substances in food: identification and potential uses. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 72:423-424.
84. Knekt, P., Järvinen, R., Reunanen, A., & Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medicine Journal*, 332:478-481.
85. Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Heliövaara, M., Teppo, L., Pukkala, E., & Aromaa, A. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of epidemiology*, 146:223-230.
86. Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissaven, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., & Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76:560-568.
87. Kris-Etherton, P., Hecker, K., Bonanome, A., Coval, S., Binkoski, A., Hilpert, K., Griel, A., & Etherton, T. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9B):71S-88S.
88. Łata, B., Przeradzka, M., & BińKowska, M. (2005a). Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:8970-8978, doi: 10.1021/jf051503x.
89. Łata, B., Trampczynska, B., & Paczesna, J. (2009). Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121:176–181, doi: 10.1016/j.scienta.2009.01.038.
90. Leccese, A., Bartolini, S. & Viti, R. (2009). Antioxidant properties of peel and flesh in 'GoldRush' and 'Fiorina' scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37(1):71-78, doi: 10.1080/0114067090951025.
91. Lee, K., Kim, Y., Kim, D., Lee, H., & Lee, C. (2003). Major phenolics in Apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:6516-6520.

92. Leja, M., Mareczek, A., & Ben, J. (2003). Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*, 80:303-307.
93. Lemos, N., Fernandes, F., Costa, D. & Correia, H. (2009). Estudo comparativo de diferentes grupos de variedades de macieiras. *Revista Millenium*, 37. *In* <http://www.ipv.pt/millenium/Millenium37/10.pdf>.
94. Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leontowicz, M., Číž, M, Soliva-Fortuny, R., Park, YS., Jung, ST., Trakhtenberg, S., & Martin-Belloso, O. (2002). Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:603-610.
95. Lessin, W.J., Catigani, G.L., & Schwartz, S.J. (1997). Quantification of *cis-trans* isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45:3728-3732.
96. Linseisen, J., Rohrmann, S., Miller, A., Bueno-de-Mesquita, H., Büchner, F., Vineis, P., Agudo, A., Gram, I., Janson, L., Krogh, V., Overvad, K., Rasmuson, T., Schulz, M., Pischon, T., Kaaks, R., Nieter, A., Allen, N., Key, T., Bingham, S., Khaw, K., Amiano, P., Barricarte, A., Martinez, C., Navarro, C., Quirós, R., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M., Touvier, M., Peeters, P., Berglund, G., Hallmans, G., Lund, E., Palli, D., Panico, S., Tumino, R., Tjønneland, A., Olsen, Anja, Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Autier, P., Boffeta, P., Slimani, N., & Riboli, E. (2007). Fruit and vegetable consumption and lung cancer risk: Updated information from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *International Journal of Cancer*, 121:1103-1114, doi: 10.1002/ijc.22807.
97. Liu, R. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(suppl):517S-520S.
98. Liu, R. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134:3479S-3485S.
99. Lozano, J. E. (2006). Fruit manufacturing: scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance, Chemical composition of fruits and its technological importance (pp. 133-161). New York: Springer-Verlag New York Inc. ISBN-10: 0-387-30614-5, ISBN-13: 9780387-30614-8, 230 pp.
100. Maiani, G., Castón, M.J., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I.G., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer-Miebach, E., Behnlian, D., & Schlemmer, U. (2009). Review: Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53:S194-S218, doi: 10.1002/mnfr.200800053.

101. Malin, A., Qi, D., S., X., Gao, Y., Friedmann, J., Jin, F., & Zheng, W. (2003). Intake of fruits, vegetables and selected micronutrients in relation to the risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*, 105(3):413-418.
102. Marchand, L., Murphy, S., Hankin, J., Wilkens, L., & Kolonel, L. (2000). Intake of flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:154-160.
103. Mari, A., Tedesco, I., Nappo, A., Russo, G., Malorni, A., & Carbone V. (2010). Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” Apple, a southern Italian cultivar. *Food Chemistry*, 123:157-164, doi: 11016/j.foodchem.20101.023.
104. Matt, D., Pehme, S., Peetsmann, E., Luik, A., & Meremäe. (2013). Pesticide residues in Estonian local and imported food in 2008–2011. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 63:sup1, 78-84, doi: 10.1080/09064710.2013.793383.
105. Mayr, U., Treutter, D., Santos-Buelga, C., Bauer, H., & Feucht, W. (1995). Developmental changes in the phenol concentrations of “Golden Delicious” apple fruits and leaves. *Phytochemistry*, 38(5):1151-1155.
106. McAusland, L. (2009). Apple Facts. Institute of Food Research (IFR), in <http://www.ifr.ac.uk/info/society/spotlight/apples.htm>.
107. McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., & Stewart, D. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5896–5904, doi: 10.1021/jf050131p.
108. McGhie, T. K., Hunt, M., & Barnett, L. E. (2005). Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:3065-3070.
109. Mergnat, T., Fritsch, P., Saint-Joly, C., Truchot, E., & Saint-Blanquat, G. (1995). Reduction in phosalone residue levels during industrial dehydration of apples. *Food Additives and Contaminants*, 12(6), 759–767.
110. Miller, A., Altenburg, H., Bueno-de-Mesquita, B., Boshuizen, H., Agudo, A., Berrino, F., Gram, I., Janson, L., Linseisen, J., Overvad, K., Rasmuson, T., Vineis, P., Lukanova, A., Allen, N., Amiano, P., Barricarte, A., Berglund, G., Boeing, H., Clavel-Chapelon, F., Day, N., Hallmans, G., Lund, E., Martinez, C., Navarro, C., Palli, D., Panico, S., Peeter, P., Quirós, J., Tønne, A., Tumino, R., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Slimani, N., & Riboli, E. (2004). Fruits and vegetables and lung cancer: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *International Journal of Cancer*, 108:269-276, doi: 10.1002/ijc.11559.
111. Miller, N., Diplock, A., & Rice-Evans, C. (1995). Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43:1794-1801.

112. Molnár, P., Deli, J., Tanaka, T., Kann, Y., Tani, S., Gyémánt, N., Molnár, J., & Kawase, M. (2010). Carotenoids with anti-helicobacter pylori activity from Golden delicious apple. *Phytotherapy Research*, 24:644-648, doi: 10.1002/ptr.2912.
113. Molnár, P., Kawase, M., Satoh, K., Sohara, Y., Tanaka, T., Tani, S., Sakagami, H., Nakashima, H., Motahashi N., Gyémánt, N., & Molnár, J. (2005). Biological activity of carotenoids in Red Paprika, Valencia Orange and Golden delicious apple. *Phytotherapy Research*, 19:700-707, doi: 10.1002/ptr.1735.
114. Mustafa, R.A., Humid, A., Mohamed, S., & Abu Bakar, F. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of Food Science*, 75(1):C28-C35, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01401.x.
115. Nansen, C., & Ridsdill-Smith, T.J. (2013). The performance of insecticides – A critical review. *Insecticides – Development of safer and more effective technologies. Agricultural and Biological Sciences*, 197-233, ISBN: 978-953-51-0958-7, doi: 10.5772/3356.
116. Ness, A.R., & Powles, J.W. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *International Journal of Epidemiology*, 26(1):1-13.
117. Neves, N., & Lopes, A. (2000). Projecto PAMAF 6114 – Preservação de variedades regionais de pomóideas na região Centro-Norte. PAMAF.
118. OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico). (2012a). Total expenditure on health *per capita*, in <http://www.oecd-ilibrary.org>, doi: 10.1787/2074384x-table4.
119. OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico). (2012b). Total expenditure on health as a percentage of gross domestic product, in <http://www.oecd-ilibrary.org>, doi: 10.1787/20758480-table1.
120. Olesek, W, Lee, Y., Jaworski, A., & Price, R. (1988). Identification of some phenolic compounds in apples. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 36:430-432.
121. Olthof, M., Hollman, P., Buijsman, M., Amelsvoort, H., & Katan M. (2003). Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *Journal of Nutrition*, 133:1806-1814.
122. Panseri, S., Catalano, A., Giorgi, A., Arioli, F., Procopio, A., Britti, D., & Chiesa, L.M., (2013). Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. *Food Control* (accepted manuscript), doi: 10.1016/j.foodcont.2013.10.024.
123. Parkin, D., Bray, F., Ferlay, J., & Pisani, P. 2005. Global cancer statistics – (2002). *CA – A Cancer Journal for Clinicians*, 55:74-108, doi: 10.3322/canjclin.55.2.74.
124. Pastene, E., Troncoso, M., Figueroa, G., Alarcón, J., & Speisky, H. (2009). Association between polymerization degree of apple peel polyphenols and inhibition of *Helicobacter*

- pylori* urease. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 57:416-424, doi: 10.1021/jf8025698.
125. Paull, R. (1999). Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. Postharvest Biology and Technology, 15:263-277.
 126. Peri, L., Pietraforte, D., Scorz, G., Napolitano, A., Fogliano, V., & Minetti, M. (2005). Apples increase nitric oxide production by human saliva at the acidic pH of the stomach: A new biological function for polyphenols with a catechol group?. Free Radical Biology & Medicine, 39:668-681, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.04.021.
 127. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). Scientia Horticulturae, 114:37-44, doi: 10.1016/j.scienta.2007.05.004.
 128. Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001). Antioxidants in food - Practical applications. CRC Press & Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, ISBN 0-8493-1222-1, 288 pp.
 129. Qai, Q., Borenstein, A.R., Wu, Y., Jackson, J.C., & Larson, E.B. (2006). Fruit and Vegetable Juices and Alzheimer's Disease: The *Kame* Project. The American Journal of Medicine, 119:751-759, doi:10.1016/j.amjmed.2006.03.045.
 130. Report on Carcinogenes. (2010). Eleventh Edition, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program.
 131. Riboli, E., & Norat, T. (2003). Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. American Journal of Clinical Nutrition, 78(suppl):559S-569S.
 132. Rocha, A., Barreiro, M., & Morais, A. (2004). Modified atmosphere package for Apple "Bravo de Esmolfe". Food Control, 15:61-64.
 133. Romieu, I., Varraso, R., Avenel, B., Leynaert, B., Kauffmann, F., & Clavel-Chapelon, F. (2013). Fruit and vegetable intakes and asthma in the E3N study. Thorax, 61:209-215, doi:10.1136/thx.2004.039123.
 134. Salgado, J., Curte, F., & Mansi, N. (2008). Effect of gala apples (*Malus domestica* Borkh) on lipidemia of hyperlipidemic rats. Ciências e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28(2):477-484, ISSN 0101-2061.
 135. Saquet, A., Brackmann, A., & Storck, L. (1997). Armazenamento de maçã "Gala" sob diferentes temperaturas e concentrações de oxigênio e gás carbônico. Ciência Rural, Santa Maria, 27(3):399-405, ISSN 0103-8478.
 136. Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. Food Chemistry, 101:492-501, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.02.006.

137. Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130:2073S-2085S.
138. Serra, A., Matias, A., Frade, R., Duarte, R., Feliciano, R., Bronze, M., Figueira, M., Carvalho, A., & Duarte, C. (2010a). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2 – Antioxidant and antiproliferative activities. *Journal of Functional Foods*, 2:46-53, doi: 10.1016/j.jff.2009.12.005.
139. Smith-Warner, S., Spiegelman, D., Yan, S., Adami, H., Beeson, L., Brandt, V., Folsom, A., Frase, G., Freudenheim, J., Goldbohm, A., Graham, S., Miller, A., Potter, J., Rohan, T., Speizer, F., Toniolo, P., Willett, W., Wolk, A., Zeleniuch-Jacquotte, A., & Hunter, D. (2001). Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA*, v. 128, 14:769-776.
140. Soares, M., Werter, L., Gonzaga, L., Lima, A., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2008). Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(3):727-732, ISSN 0101-2061.
141. Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., & Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 28:R41-R45, doi:10.1088/0967-3334/28/4/R01.
142. Song, Y., Manson, J.E., Buring, J.E., Sesso, H.D., & Liu, S. (2005). Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. *Journal of the American College of Nutrition*, 24:376-384.
143. Spanos, A., & Wrolstad, E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:1478-1487.
144. Stolze, K., & Nohl, H. (1999). Free radical formation and erythrocyte membrane alterations during MetHb formation induced by the BHA metabolite, tert-butylhydroquinone (TBHQ). *Free Radical Research*, 1999, 30(4):295-303.
145. Suárez, B., Álvarez, A., García, Y., Barrio, G., Lobo A. & Parra, F. (2010). Phenolic profiles, antioxidant activity and *in vitro* antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry*, 120:339-342, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.073.
146. Sun, J., Chu, Y., Wu, X., & Liu, R. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:7449-7454.
147. Tarko, T., Duda-Chodak, A., Sroka, P., Satora, P., & Michalik, J. (2009). Transformation of Phenolics in Alimentary Tract, *Food Technol. Biotechnol.* 47 (4): 456–463, ISSN: 1330-9862.

148. Trias, R., Bañeras, L., Badosa, E., & Montesinos, E. (2008). Bioprotection of Golden Delicious apples and Iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 123:50-60, doi: 1201216/j.ijfoodmiro.2007.11.065.
149. Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., & Khanizadeh, S. (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53:4989-4995, doi: 10.1021/jf048289h.
150. USDA - U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2011). USDA - National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory Home Page, in <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.
151. Van der Sluis, A., Dekker, M., Jager, A., & Jogen, W. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49:3606-3613, doi: 10.1021/jf001493u.
152. Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1687-1694, doi: 10.1002/jsfa.2113.
153. Veeriah, S., Kautenburger, T., Habermann, N., Sauer, J., Dietrich, H., Will, F., & Pool-Zobel, B. (2006). Apple flavonoids inhibit growth of HT29 human colon cancer cells and modulate expression of genes involved in the biotransformation of xenobiotics. *Molecular Carcinogenesis*, 45:164-174, doi: 10.1002/mc.20158.
154. Veliloglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits vegetables, and grain products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46:4113-4117.
155. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Amboni, R., Denardi F., & Fett, R. (2009). Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 122:421-425, doi: 10.1016/j.scienta.2009.06.012.
156. Vítor, J. M., & Vale, F. F. (2011). Alternative therapies for *Helicobacter pylori*: probiotics and phytomedicine. *Immunology & Medical Microbiology*, 63:153-164, doi: 10.1111/j.1574-695X.2011.00865.x.
157. Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. & Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:6532-6538.
158. W.C.R.F./A.I.C.R. (2007). Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. London. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research.

159. WAPA – World Apple and Pear Association. (2011). Groupe de travail previsions pommes. AGRI.C.2 / POM22 / 11, Bruxelas, Bélgica, pp. 110.
160. Weikert, S., Boeing, H., Pischon, T., Olsen, A., Tønneberg, A., Overvad, K., Becker, N., Linseisen, J., Lahmann, P., Arvaniti, A., Kassapa, C., Trichoupoulou, A., Sieri, S., Palli, D., Tumino, R., Vineis, P., Panico, S., Gils, C., Peeters, P., Bueno-de-Mesquita, H., Büchner, F., Ljungberg, B., Hallmans, G., Berglund, G., Wirfält, E., Pera, G., Dorronsoro, M., Gurree, A., Navarro, C., Martinez, C., Quirós, J., Allen, N., Roddam, A., Bingham, S., Jenab, M., Slimani, N., Norat, T., & Riboli, E. (2006). Fruits and vegetables and renal cell carcinoma: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *International Journal of Cancer*, 118:3133-3139, doi: 10.1002/ijc.21765.
161. WHO - World Health Organization - FAO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation (Report 916). Geneva, Switzerland, 11 pp.
162. Willet, W. (1995). Diet, nutrition, and avoidable cancer. *Environ. Health Perspect.* 103:165-170.
163. Willet, W. (2002). Balancing lifestyle and genomics research for disease prevention, *Science*, 296:695-698.
164. Willet, W. (2010). Fruits, vegetables, and cancer prevention: turmoil in the produce section. *Journal of the National Cancer Institute*, 102(8):510-511, doi: 10.1093/jnci/djq098.
165. Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. (2003b). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:609-614, doi: 10.1021/jf020782a.
166. Woods, R., Walters, E., Raven, J., Wolfe, R., Ireland, P., Thien, F., & Abramson, M. (2003). Food and nutrient intakes and asthma risk in young adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78:414-421.
167. Yano, M., Kato, M., Ikoma, Y., Kawasaki, A., Fukazawa, Y., Sugiura, M., Matsumoto, H., Oohara, Y., Nagao, A., & Ogawa, K. (2005). Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. *Food Science and Technology Research*, 11(1):13-18.
168. Yoon, H., & Liu, R. (2007). Effect of selected phytochemicals and apple extracts on NF- κ B Activation in human breast cancer MCF-7 cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:3167-3173.
169. Yoshizawa, Y., Sakurai, K., Kawaii, S., Asari, M., Soejima, J., & Murofushi, N. (2005). Comparison of antiproliferative and antioxidant properties among nineteen apple cultivars. *HortScience*, 40:1204-1207.
170. Yubao, J., Keding, Z., Ying, L., Liuping, H., Wenbo, C., & Libo, W. (2013). Introduction to China and European Union Standards for Pesticide Residue in Apple. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 29(04):195-199.

171. Yuri, J., Neira, A., Quilodran, A., Motomura, Y., & Palomo, I. (2009). Antioxidant activity and total phenolics concentration in Apple peel and flesh is determined by cultivar and agroclimatic growing regions in Chile. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(3&4):513-517.
172. Zessner, H., Pan, L., Will, F., Klimo, K., Knauff, J., Newöhner, R., Hümmer, W., Owen, R., Richling, E., Frank, N., Schreier, P., Becker, H., & Gerhauser, C. (2008). Fractionation of polyphenol-enriched apple juice extracts to identify constituents with cancer chemopreventive potential. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52:S28-S44, doi: 10.1002/mnfr.200700317.
173. Ziegler, R.G. (1991). Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *American Journal of Clinic Nutrition*, 53(25):1S-9S.
174. Zierer, A. (2001). Significados medievais da maçã: fruto proibido, fonte do conhecimento, ilha paradisíaca. *Mirabilia – Revista Electrónica de História Antiga e Medieval* 1, Brasil, ISSN 1676-5818.



CAPÍTULO 2

Propriedades Físico-Químicas e Nutricionais

- Teor de água
- Teor de cinzas
- Composição mineral
- Azoto
- Fósforo
- Açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores
- Acidez titulável
- Rácio açúcares/acidez
- Fibra total

2.1. INTRODUÇÃO

A maçã conjuga uma complexa diversidade de compostos que a tornam num dos frutos mais apreciados e consumidos em todo mundo (FAOSTAT, 2012). Na base deste desempenho estão diversos constituintes que influenciam as suas características sensoriais, como por exemplo o teor de acidez, o teor de açúcares, a relação açúcar/ácido e o teor de água (Hagen *et al.*, 2007; Wosiacki *et al.*, 2004). Em paralelo, a maçã alberga uma composição mineral diversa que consubstancia a importância nutricional do fruto (Feliciano *et al.*, 2010; Henríquez *et al.*, 2010a).

2.1.1. Teor de água

A água é o principal componente das maçãs e representa, de acordo com estudos anteriores, entre 76,7-88,4% do seu peso (USDA, 2011; Campeanu *et al.*, 2009), dependendo da variedade considerada (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Teor de água em maçãs (polpa + casca). Valores expressos em g/100 g de peso fresco.

Referência Bibliográfica	Variedade	Teor de Água
USDA (2011)	Não indicado	85,6
APRIFEL (2010)	Não indicado	84,3
INSA (2006)	Não indicado	82,9
DANE (2011)	Diversas ⁽¹⁾	82,3 – 85,2
Schmidt-Hebbel <i>et al.</i> (1992)	Não indicado	84,2
Reyes-García <i>et al.</i> (2009)	Não indicado	84,7
Feliciano <i>et al.</i> (2010)	Var. Tradicionais ⁽²⁾	78,1 – 83,5
Feliciano <i>et al.</i> (2010)	Var. Exóticas ⁽³⁾	79,5 – 83,3
Almeida & Pintado (2007)	Diversas ⁽⁴⁾	81,7 – 87,7
Campeanu <i>et al.</i> (2009)	Diversas ⁽⁵⁾	76,7 – 88,4

(1) Elstar, Fuji, Gala, Golden Granny Smith. (2) Bravo de Esmolfe, Malápio Fino, Malápio da Serra e Pêro Pipo. (3) Golden Starking, Fuji, Reineta Parda e Gala Galaxy. (4) Golden Delicious, Granny Smith, Jonagored e Galaxy. (5) Mutzu, Jonathan, Delicious, H-3/73, H-4/101, H-3/123, H-5/79, H-4/56, H-3/23 e H-4/50.

2.1.2. Composição mineral

Inúmeros estudos mostram que a composição mineral e de oligoelementos das maçãs também oscila entre exemplares de variedades distintas, como resultado da variação existente no teor

de cinzas que, segundo os valores descritos na bibliografia, se situa entre 0,18 e 2,77 g/100 g PF (USDA, 2011; Campeanu *et al.*, 2009) (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Teor de cinzas em maçãs (polpa + casca). Valores expressos em g/100 g de peso fresco.

Referência Bibliográfica	Variedade	Teor de Cinzas
USDA (2011)	Não indicado	0,19
Schmidt-Hebbel <i>et al.</i> (1992)	Não indicado	0,20
Almeida & Pintado (2007)	Casa Nova Alcobaça	0,23 ± 0,00
Almeida & Pintado (2007)	Reineta Parda	0,28 ± 0,01
Almeida & Pintado (2007)	Starking	0,20 ± 0,00
Almeida & Pintado (2007)	Diversas ⁽¹⁾	0,18 – 0,28
Nogueira <i>et al.</i> (2007)	Fuji	1,51 ± 0,05
Nogueira <i>et al.</i> (2007)	Diversas ⁽²⁾	1,36 – 2,49
Campeanu <i>et al.</i> (2009)	Diversas ⁽³⁾	1,63 – 2,77

(1) *Golden Delicious, Granny Smith, Jonagored e Galaxy.* (2) *Sansa, Daiane, Imperatriz, Baronesa e Fred Hough.* (3) *Mutzu, Jonathan, Delicious, H-3/73, H-4/101, H-3/123, H-5/79, H-4/56, H-3/23 e H-4/50*

Os minerais desempenham diversas funções no organismo humano, entre as quais se destacam a regulação da atividade enzimática, a manutenção do equilíbrio ácido-base e da pressão osmótica, a intervenção no transporte de nutrientes, a constituição e reparação de tecidos corporais (ossos e dentes), e a participação no crescimento e desenvolvimento do organismo, entre outras (APN, 2011). Em termos específicos, sabe-se que o cálcio – o elemento inorgânico mais abundante no organismo (representando entre 1,5 a 2 % do peso corporal) – e o fósforo, o segundo elemento mais abundante, podem ser encontrados predominantemente no tecido ósseo e nos dentes. O cálcio é ainda responsável pela regulação das funções neural e muscular, pela regulação do funcionamento das hormonas, da adequada coagulação do sangue, etc., enquanto o fósforo desempenha ainda funções importantes no metabolismo dos macronutrientes (hidratos de carbono, lípidos e proteínas). O sódio, juntamente com o potássio e o cloro, estão envolvidos na osmolaridade dos fluidos corporais e na determinação dos equilíbrios osmóticos intracelulares e extracelulares. O ferro desempenha múltiplas funções bioquímicas, nomeadamente participando na produção de glóbulos vermelhos e de hemoglobina, e reforçando os mecanismos de defesa do organismo. O zinco é necessário para diversos processos bioquímicos que são importantes para o crescimento e desenvolvimento do organismo (Katsilambros *et al.*, 2010). O magnésio participa ativamente na estabilização da estrutura de ATP, é o cofator de mais de 300 enzimas envolvidas no metabolismo de diversos componentes alimentares, e desempenha um papel muito relevante na atividade de transmissão neuromuscular, atuando concertadamente com o cálcio. O manganês é um componente de diversas enzimas e ativador de outras, para além de estar associado a outras funções ligadas ao crescimento e à reprodução, bem como ao metabolismo

dos hidratos de carbono e dos lípidos. O molibdênio participa na formação de algumas enzimas (Mahan & Escott-Stump, 2008). Quanto ao alumínio e ao níquel, supõe-se que possam também ser essenciais ao organismo, muito embora não existam evidências relevantes que o possam confirmar (Katsilambros *et al.*, 2010).

Os minerais podem atuar também no tratamento de doenças, como são o caso do cobre, do manganês e do ferro que são catalisadores muito eficientes na prevenção e no tratamento da arteriosclerose. O ferro faz ainda parte da hemoglobina e é usado no tratamento de algumas formas de anemias. O magnésio e o potássio têm sido utilizados na prevenção e no tratamento de arritmias. O cálcio, para além de estar na base do esqueleto humano, também assegura o funcionamento adequado do miocárdio e dos vasos sanguíneos do coração (Gorinstein *et al.*, 2001).

Em termos globais, o potássio, o fósforo, o magnésio e o cálcio são os minerais mais representativos em maçãs (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Composição inorgânica de maçãs. Elementos minerais e azoto em maçãs.

Compostos	Valores expressos por 100 g de peso fresco			
	Feliciano <i>et al.</i> (2010) ^(a)	Henríquez <i>et al.</i> (2010a) ^(b)	Gorinstein <i>et al.</i> (2001) ^(c)	Tabelas Comp. Alimentos ^(d)
K (mg)	69,39 – 115,02	82,4 ± 0,1 - 122,9 ± 0,9	81,9 ± 7,5	107 – 145
N (mg)	9,60 – 16,0	38,9 ± 1,6 - 49,5 ± 1,1	-	32 – 48
P (mg)	5,16 – 10,98	4,7 ± 0,3 - 8,7 ± 0,8	-	8 – 12
Mg (mg)	2,55 – 4,41	7,6 ± 0,6 - 10,0 ± 0,5	5,02 ± 0,6	4 – 8
Ca (mg)	1,26 – 4,47	4,1 ± 0,3 - 7,2 ± 0,4	4,26 ± 1,6	4 – 7
Na (mg)	0,43 – 1,72	1,1 ± 0,1 - 9,4 ± 0,6	0,6 ± 0,2	1 – 6
Fe (mg)	0,10 - 0,19	0,21 ± 0,00 - 0,33 ± 0,03	0,094 ± 0,017	0,12 – 0,20
Al (mg)	0,04 – 0,27	-	-	-
Mn (µg)	22,06 – 53,43	30,0 ± 0,00 - 70,0 ± 0,01	30,7 ± 5,8	30 – 35
Zn (µg)	19,92 – 39,10	10,0 ± 0,00 - 40,0 ± 0,02	18,1 ± 3,6	40 – 90
Ni (µg)	3,23 – 9,61	-	-	-
Mo (µg)	< 0,90 – 6,57	-	-	-

(a) Variedades: *Bravo de Esmolfe* (com e sem casca), *Malápio Fino*, *Malápio da Serra*, *Pêro Pipo*, *Fuji*, *Starking*, *Reineta Parda*, *Gala Galaxy* e *Golden*. (b) Variedades: *Fuji*, *Granny Smith*, *Pink Lady*, *Red Delicious* e *Royal Gala*. (c) Variedade: *Lobo*. (d) Tabelas de Composição de Alimentos: INSA (2006); USDA (2011); APRIFEL (2010); Schmidt-Hebbel *et al.* (1992).

2.1.3. Teor de acidez da maçã

O teor de acidez titulável é um dos parâmetros mais importantes na avaliação sensorial de maçãs, dado que permite prever com algum rigor o sabor ácido e o aroma dos frutos (Petkovšek *et al.*, 2007). As maçãs possuem um pH ligeiramente ácido – entre 3,35 e 4,27

(Vieira *et al.*, 2009; Plancho *et al.*, 2004) –, e teores de acidez relativamente elevados – entre 0,13 e 1,67 g ácido málico/100 g de peso fresco (Tabela 2.4). De acordo com Guiné *et al.* (2008) as maçãs podem ser classificadas em três classes, tendo em consideração o seu grau de acidez: maçãs de acidez reduzida (valores de acidez titulável inferiores a 0,4%), de acidez intermédia (valores entre 0,4% e 0,8%) e maçãs de acidez elevada (aquelas que possuem valores superiores a 0,8%) (Hagen *et al.*, 2007). Contudo, a característica ácida/doce das maçãs é também fortemente influenciada pelo teor em açúcares (Chinnici *et al.*, 2005), o que determina que a relação entre estes e a acidez titulável seja um dos principais índices usados para apurar as propriedades sensoriais do fruto, no que concerne à acidez e à doçura (Wu *et al.*, 2007; Petkovšek *et al.*, 2007).

Tabela 2.4. Teor de acidez total de diversas variedades de maçã.

Referência Bibliográfica	Variedade	Acidez Total ⁽¹⁾
Leccese <i>et al.</i> (2009) (g/100 g)	Diversas	0,91 – 1,67
Vieira <i>et al.</i> (2009) (g/100 g)	Diversas	0,26 – 0,36
Harker <i>et al.</i> (2002) (g/100 g)	Diversas	0,15 – 0,95
Wosiacki <i>et al.</i> (2004) (g/100 g)	Diversas	0,13 – 0,63
Campeanu <i>et al.</i> (2009) (g/100 g)	Diversas	0,13 – 0,35
Hecke <i>et al.</i> (2006) (g/100 g)	Diversas	0,60 – 1,40
Hagen <i>et al.</i> (2007) (g/100 g)	Variedade Aroma	0,53 ⁽²⁾ – 0,56 ⁽³⁾
Podsędek <i>et al.</i> (2000) (g/100 g)	Diversas	0,21 – 1,21
Hoehn <i>et al.</i> (2003) (g/100 mL)	Diversas	0,14 – 0,89
Paganini <i>et al.</i> (2004) (g/100 mL)	Diversas	0,29 – 0,41
Iglesias <i>et al.</i> (2006) (g/100 mL)	Diversas	0,25 – 0,61
Feliciano <i>et al.</i> (2010) (g/100 mL)	Diversas	0,10 – 0,70

(1) Dados expressos em g de ácido málico/100 g de peso fresco ou 100 mL de amostra. (2) Maçãs expostas ao sol. (3) Maçãs resguardadas do sol (à sombra).

2.1.4. Açúcares (açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores)

Os açúcares contribuem significativamente para a qualidade organolética das maçãs e são determinantes para tornar o fruto apelativo ao paladar (Wu *et al.*, 2007), conferindo-lhe o sabor doce (Molnár-Perl, 2000) que compensa as características ácidas resultantes de outros componentes (Zhang *et al.*, 2010), nomeadamente os ácidos orgânicos, cuja relação com os açúcares é, como foi já referido, de extrema importância para a definição do sabor da maçã (Petkovšek *et al.*, 2007). Apesar dos açúcares presentes em maçãs não contribuírem de forma decisiva para a sua atividade antioxidante (Lotito & Frei, 2004), estão frequentemente ligados a componentes bioativos como os flavonóis (e.g. galactose, glucose, ramnose, arabinose e xilose) e as dihidrochalconas (e.g. glucose e xiloglucose) (Wojdyło *et al.*, 2008). O teor de açúcares varia entre as diversas variedades de maçãs, quer no que respeita aos açúcares totais, quer no que concerne aos monossacáridos e à sacarose. De acordo com trabalhos

desenvolvidos por Wu *et al.* (2007) e Feliciano *et al.* (2010), as maçãs possuem uma grande quantidade de açúcares totais: entre 8,4 e 12,5 g/100 mL e 9,99 e 13,25 g/100 g, respetivamente (Tabela 2.5), repartidos por açúcares redutores (frutose, glucose e galactose), açúcares não redutores (sacarose) e sorbitol, um açúcar álcool. Estes e outros trabalhos (Füzfai *et al.*, 2004; Chinnici *et al.*, 2005) mostram que a frutose e a glucose são os monossacáridos mais relevantes, em particular a frutose, e que os níveis deste açúcar, bem como da glucose e da sacarose, aumentam ao longo dos estágios mais avançados de maturação, razão que determina que os frutos sejam analisados em idêntico estado de maturação (Lotito & Frei, 2004).

Tabela 2.5. Concentração de açúcares totais e dos principais açúcares individuais presentes em maçãs.

Referências	g/100 g de peso fresco					Açúcares Totais
	Frutose	Glucose	Galactose	Sacarose	Sorbitol	
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	5,2–8,9	0,9–3,8	–	5,2	0,3–0,6	12,8–19,2
Leccese <i>et al.</i> (2009)	–	–	–	–	–	12,1–13,9
Drake & Eisele (1999)	–	–	–	–	–	11,1
Campeanu <i>et al.</i> (2009)	–	–	–	–	–	9,5–12,3
Feliciano <i>et al.</i> (2010)	4,2–5,9	0,7–2,0	2,0–3,2	1,2–3,2	–	10,0–13,3
Wosiacki <i>et al.</i> (2004)	6,5–10,8	2,2–4,6	–	0,3–6,3	–	9,1–13,8
Harker <i>et al.</i> (2002)	3,1–4,4	1,0–2,1	–	1,7–4,8	0,3–0,7	7,7–10,5
Hoehn <i>et al.</i> (2003)	–	–	–	–	–	13,0–13,9
Hecke <i>et al.</i> (2006)	(a)	0,5–2,0	–	<8,5	0,6 ^(b)	11,5–20,0
McCance & Widdowson (2002)	6,2	1,7	–	3,9	–	11,8

(a) Valores concretos não referidos; (b) Valor médio.

Outros estudos revelam teores de açúcares redutores entre 5,6 e 12,2 g/100 g de peso fresco (Wosiacki *et al.*, 2004) e 11,8 e 14,9 g/100 mL de amostra (Paganini *et al.*, 2004).

Os hidratos de carbono livres – i.e. monossacáridos, dissacáridos, trissacáridos, oligossacáridos e polissacáridos – constituem a maior parte da matéria orgânica das maçãs, sendo responsáveis por diversas das suas propriedades sensoriais: os monossacáridos, como a glucose e a frutose, conferem um sabor adocicado, enquanto os oligossacáridos e polissacáridos definem a textura e a consistência (Molnár-Perl, 2000). Um destes polissacáridos, a pectina, contribui para a textura da maçã fresca e sobretudo para a textura de produtos derivados da maçã através de processamento térmico como é o caso de doces e geleias.

A frutose e a sacarose são os principais açúcares presentes em maçãs, e o sorbitol o principal açúcar álcool (Drake & Eisele, 1999). A concentração de açúcares varia consideravelmente ao longo do desenvolvimento do fruto, devido à sua produção por vias biossintéticas como é exemplo o aumento da concentração de frutose e a diminuição da concentração de sorbitol,

devido à conversão de sorbitol em frutose (Zhang *et al.*, 2010) e devido à diminuição do teor de água (Petkovšek *et al.*, 2009). O teor de glucose também aumenta, ao contrário da sacarose que ora aumenta ou diminui, de acordo com as variedades de maçãs estudadas (Petkovšek *et al.*, 2009). O estudo de (Suni *et al.*, 2000) mostra que a frutose representa 57% do total de hidratos de carbono de baixo peso molecular relativo ao peso seco, seguido da sacarose (28%), da glucose (11%) e do sorbitol (4%).

2.1.5. Rácio açúcares/acidez

A relação existente entre o teor de açúcar e o teor de acidez influencia substancialmente a opinião que os consumidores têm acerca das características sensoriais dos frutos, nomeadamente a sua perceção das sensações de doçura e de acidez (Chinnici *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2007). Esta razão açúcares/acidez consiste num instrumento de previsão dos atributos sensoriais dos frutos mais representativo do que o teor de açúcares ou o teor de acidez isoladamente (Jayasena & Cameron, 2008), uma vez que a acidez titulável permite prever a intensidade do sabor ácido e do aroma das maçãs enquanto a concentração de açúcares totais se correlaciona fortemente com o sabor adocicado (Harker *et al.*, 2002). Assim, é possível utilizar esta relação para classificar as maçãs quanto ao seu grau de doçura/acidez. As variedades de maçãs com relação açúcares/acidez menor do que 20 são mais ácidas e, apesar de poderem ser consumidas, são mais apropriadas para a produção industrial de sidra e de compotas (sobretudo se o valor se situar abaixo de 15), enquanto variedades que possuem um rácio superior a este valor são mais doces e indicadas para o consumo fresco (Lea, 1995). Quando o valor apurado por este rácio se situa entre 20-40 as maçãs possuem doçura intermédia e quando esta razão é superior a 40 as maçãs apresentam uma doçura superior (Jayasena & Cameron, 2008). Um rácio baixo demonstra a existência de numa relação mais balanceada entre o teor de açúcares e os valores de acidez, situação que contribui para uma polpa mais firme, crocante e succulenta. Por outro lado, um rácio superior revela que o fruto possui um grau de doçura mais elevado (Leccese *et al.*, 2009), o que não significa necessariamente que essas maçãs têm um maior teor de açúcar, pois podem possuir antes uma baixa concentração de ácidos orgânicos, sobretudo de ácido málico (Petkovšek *et al.*, 2007). Outro dado relevante é o facto da relação açúcares/acidez aumentar ao longo do processo de amadurecimento, a par da crescente maciez do fruto, coloração mais apurada, e aumento da atividade respiratória e da produção de etileno (Tahir, 2006; Aaby *et al.*, 2002).

A Tabela 2.6 mostra o rácio açúcares/acidez determinada por diferentes autores em algumas variedades de maçãs.

Tabela 2.6. Relação entre o teor de açúcar e o teor de ácidos orgânicos totais em maçãs.

Referência Bibliográfica	Variedade	Relação Açúcar/Acidez
Vieira <i>et al.</i> (2009)	Diversas	32,05 – 66,80
Leccese <i>et al.</i> (2009)	Diversas	20,54 – 70,65
Hoehn <i>et al.</i> (2003)	Diversas	27,40 – 36,76
Paganini <i>et al.</i> (2004)	Diversas	29,59 – 43,97
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	Diversas	12,31 – 28,88
Nogueira <i>et al.</i> (2006)	Diversas	16,30 – 57,96

2.1.6. Fibra dietética

A fibra dietética consiste no remanescente da parte edível de plantas e frutos, e dos hidratos de carbono análogos, que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado, mas que podem ser parcial ou totalmente fermentados no intestino grosso (Prosky, 1999). As fibras alimentares, nomeadamente celulose, hemicelulose, pectina, β -glucanas, gomas e lignina, podem ser classificadas como solúveis ou insolúveis em água (Figuerola *et al.*, 2005; Ramulu & Rao, 2003) e são conhecidas por exibirem efeitos laxantes (aumento e amolecimento da massa fecal, regulação e aumento da frequência dos movimentos peristálticos), diminuição do colesterol e glucose sanguíneos (Prosky, 1999), e têm sido associadas à prevenção e tratamento de diversas doenças, entre as quais a doença diverticular e as doenças cardiovasculares (Telrandhe *et al.*, 2012; Figuerola *et al.*, 2005; Gorinstein *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 1998). Estudos epidemiológicos têm demonstrado paralelamente que as fibras existentes em maçãs podem contribuir para a perda de peso e para a prevenção e tratamento da obesidade (Oliveira *et al.*, 2008). As organizações de saúde têm recomendado, por isso, a ingestão de uma grande quantidade de fibras (30 a 45 g por dia) (Gorinstein *et al.*, 2001).

As maçãs possuem grandes quantidades de pectinas, celulosas, hemicelulosas e ligninas (Feliciano *et al.*, 2010), e constituem uma boa fonte de fibras (Tabela 2.7) com uma adequada proporção entre fração insolúvel e solúvel. A fração de fibra solúvel contribui de forma decisiva para o aumento de volume do bolo alimentar e, portanto, para a sensação de saciedade, uma vez que possui a capacidade de reter água numa quantidade várias vezes superior ao seu próprio peso (Figuerola *et al.*, 2005). O consumo de uma maçã por dia pode contribuir com cerca de 14,5% da dose diária de fibras recomendada.

Não são conhecidos outros estudos que tenham apresentado o teor de fibras da fração casca isoladamente, para além dos trabalhos de Gorinstein *et al.* (2001) e de Gorinstein *et al.* (2002), que revelaram dados muito diferentes entre si (Tabela 2.7). O teor de fibras tem sido sobretudo calculado no fruto inteiro, muito embora existam alguns trabalhos que apresentam também a

concentração de fibras da polpa (Sivakumaran *et al.*, 2013; USDA, 2011; Feliciano *et al.*, 2010; INSA, 2006; McCance & Widdowson, 2002).

Tabela 2.7. Teor de fibras totais em maçãs.

Referência Bibliográfica	Variedades	g/100 g de peso fresco		
		Polpa	Casca	Fruto Inteiro
Gorinstein <i>et al.</i> (2001)	Não indicado	0,66	0,91	0,80
Gorinstein <i>et al.</i> (2002)	Golden Delicious	2,19	2,87	–
Feliciano <i>et al.</i> (2010)	Bravo de Esmolfe	0,99	–	2,27
Feliciano <i>et al.</i> (2010)	Diversas	–	–	0,99–3,74
Gheyas <i>et al.</i> (1997)	Diversas	–	–	1,38–2,87
McCance & Widdowson (2002)	Não indicado	1,20	–	1,80
INSA (2006)	Não indicado	1,90	–	2,10
USDA (2011)	Não indicado	1,30	–	2,40
Schmidt-Hebbel (1992)	Não indicado	–	–	0,50
DANE (2011)	Diversas	–	–	2,20 – 2,39
Reyes-García (2009)	Diversas	–	–	0,80
Sivakumaran <i>et al.</i> (2013)	Não indicado	1,80	–	2,70

A utilização de fibras por parte da indústria alimentar tem beneficiado de um acréscimo nos últimos anos, sobretudo de fibras provenientes de cereais, que são utilizadas como suplementos ou como ingredientes ativos na composição de diversos produtos. No entanto, as fibras extraídas a partir de frutos possuem uma qualidade superior, devido a uma maior concentração de fibras totais e solúveis, maior capacidade de retenção de água e de gordura e maior capacidade de fermentação, para além de possuírem um menor conteúdo de ácido fítico e um valor energético inferior (Figuerola *et al.*, 2005; Masoodi *et al.*, 2002). Dado que grande parte da fibra se encontra localizada na casca, na sua maioria rejeitada no decurso do processamento industrial de maçãs (Henríquez *et al.*, 2010b), e tendo em consideração que a casca das maçãs possui propriedades que têm vindo a ser associadas à proteção da saúde (Drogoudi *et al.*, 2008; Łata & Tomala, 2007b; Gorinstein *et al.*, 2002), a utilização das fibras provenientes do bagaço de maçã poderá vir a ser uma realidade mais assídua no futuro, nomeadamente através da sua incorporação em farinhas utilizadas na produção de produtos de pastelaria (Rupasinghe *et al.*, 2008; Sudha *et al.*, 2007; Masoodi *et al.*, 2002).

2.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.2.1. Materiais

O ácido nítrico, o sulfato de potássio, a solução de fenolftaleína 1% ($C_2O_4H_{14}O_4$), o azul de metileno ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$), a solução Carrez I - hexacianoferrato (II) de potássio ($Ke_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) e o sulfato de cobre II ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) foram adquiridos à Panreac (Barcelona, Espanha). Os padrões cálcio, alumínio, magnésio, potássio, sódio, ferro, zinco, níquel, molibdénio, fósforo e manganês, bem como o vermelho de metilo ($C_{15}H_{15}N_3O_2$), o tartarato de potássio e antimónio ($(KSb)_2C_8H_4O_{10} \cdot 3H_2O$) e o ácido sulfúrico provieram da Merck (Darmstadt, Alemanha). O hidróxido de sódio e o hidróxido de potássio foram comprados à Labsolve (Lisboa, Portugal), e a solução Carrez II - Sulfato de Zinco Heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) à M&B Laboratory Chemicals (Dagenham, Inglaterra). O tartarato de sódio e potássio ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) foi adquirido à Chem-Lab NV (Zedelgem, Bélgica), e o molibdato de amónio ($(NH_4)_6MO_7O_{24} \cdot 4H_2O$), o dihidrogenofosfato de potássio e o selénio negro em pó à Riedel-de Haën (Seelze, Alemanha). O ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) e o ácido bórico (H_3BO_3) foram comprados à Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido). As lâmpadas de Ca, Al, Mg, K, Na e Fe foram adquiridas à empresa Analytikjena (Jena, Alemanha) e as de Zn, Ni, Mn e Mo, à Unicam Thermo Scientific (Waltham, EUA).

2.2.2. Variedades de maçãs selecionadas

Foram selecionadas, a partir da colheita de 2011, 17 variedades de maçãs de 5 localizações diferentes do território de Portugal continental, tal como se detalha de seguida (Tabelas 2.8 e 2.9):

- Variedades exóticas: *Reineta Parda*, *Royal Gala*, *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious* e *Fuji*. Estas variedades, com grande expressão comercial, foram colhidas em pomares da Região do Oeste, concelho de Torres Vedras.
- Variedades tradicionais: *Camoesa da Azoia ou Maçã Férrea*, *Maçã Cunha ou Riscadinha de Palmela* e *Maçã Branca ou Maçã Moscatel* (colhidas num pequeno pomar particular na aldeia de Azoia, concelho de Sesimbra), *Pardo Lindo*, *Maçã Verdeal*, *Querina* e *Pipo de Basto* (provenientes dos pomares da Estação Agronómica de Viseu, património da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro), *Porta da Loja* (procedente do pomar da Quinta de Sergude, Felgueiras, propriedade da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte), *Casa Nova de Alcobaça* e *Maçã Espelho* (oriundas de pomares da Região Oeste, no concelho de Alcobaça) e *Bravo de Esmolfe* (proveniente de pomares da Região Oeste, concelho de Torres Vedras). Todas as variedades tradicionais citadas são produzidas em pequenas quantidades, com exceção da variedade *Bravo de Esmolfe* e, em menor grau, da *Maçã Cunha (Riscadinha de Palmela)*, que fazem já parte do circuito

comercial e são, por isso, produzidas em maior quantidade, muito embora com expressão residual no contexto global.

As amostras de cada uma das variedades selecionadas foram colhidas em pleno estado de maturação, tendo-se separado apenas os exemplares que revelavam características fisiológicas adequadas à comercialização e total ausência de sinais de doenças, de ataque por parte de insetos, ou outras pragas, ou qualquer outro indício que pudesse constituir um desvio à qualidade dos frutos. Com base nestas condições, procedeu-se aleatoriamente à colheita de aproximadamente 4 kg de maçãs de cada uma das variedades, a partir do exterior da copa das macieiras, tendo-se evitado a colheita a partir do topo, da base e do interior das mesmas. As árvores situadas nos limites dos pomares foram também evitadas. Estes requisitos foram cumpridos no sentido de diminuir as variações físico-químicas, dimensão do fruto, rentabilidade, estado de maturação, condições fisiológicas e exposição à luz, características que se sabe influenciam diretamente a cor da casca e da polpa, mas também o teor de polifenóis, os sólidos totais, a acidez, os açúcares e a composição mineral (Pandey *et al.*, 2013; He *et al.*, 2008; Łata *et al.*, 2005a; Veberic *et al.*, 2005; Van der Sluis *et al.*, 2002; Carbone *et al.*, 2001). As maçãs foram de seguida identificadas, colocadas em caixas e transportadas para o laboratório.

Tabela 2.8. Origem das variedades tradicionais portuguesas.





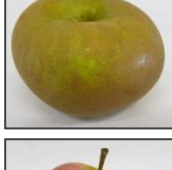

Variedades		Origem		Produção
	Porta da Loja	Felgueiras	Quinta de Sergude, DRAPN	Biológica
	Pardo Lindo	Viseu	Estação Agronómica de Viseu, DRAPC	Convencional
	Querina	Viseu	Estação Agronómica de Viseu, DRAPC	Biológica
	Pipo de Basto	Viseu	Estação Agronómica de Viseu, DRAPC	Convencional
	Maçã Verdeal	Viseu	Estação Agronómica de Viseu, DRAPC	Biológica
	Maçã Espelho	Alcobaça	Eng.º Gomes Pereira	Convencional
	Casa Nova de Alcobaça	Alcobaça	Eng.º Gomes Pereira	Convencional
	Camoesa da Azoia	Sesimbra	Quinta da Camoesa Aldeia Nova da Azoia, Enf.º Ricardo Santos	Convencional
	Maçã Cunha/ Riscadinha de Palmela	Sesimbra	Quinta da Camoesa Aldeia Nova da Azoia, Enf.º Ricardo Santos	Convencional
	Maçã Branca	Sesimbra	Quinta da Camoesa Aldeia Nova da Azoia, Enf.º Ricardo Santos	Convencional
	Bravo de Esmolfe	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional

Ano da colheita das amostras: 2011.

DRAPN – Direção Regional de Agriculturas e Pescas do Norte.

DRAPC – Direção Regional de Agriculturas e Pescas do Centro.

Tabela 2.9. Origem das variedades exóticas.

Variedades		Origem		Produção
	Starking	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional
	Jonagold	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional
	Golden Delicious	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional
	Fuji	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional
	Reineta Parda	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional
	Royal Gala	Torres Vedras	Luís Vicente, S.A.	Convencional

Ano da colheita das amostras: 2011.

2.2.3. Preparação das amostras

As maçãs foram lavadas com água destilada, pesadas, secas e congeladas em câmara de congelação a $-54\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao fim de uma semana foram transferidas para câmaras de conservação de congelados e mantidas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até serem usadas.

2.2.4. Peso dos frutos e relação polpa/casca

A relação polpa/casca foi apurada com base no peso médio de maçãs inteiras e das suas porções polpa e casca. Para isso, procedeu-se à seleção ao acaso de 10 exemplares de cada variedade e à sua posterior pesagem. Seguidamente, as maçãs foram finamente descascadas

e as resultantes frações, casca e polpa, devidamente pesadas. Por fim, efetuou-se a média aritmética e o desvio padrão dos dados apurados. Os resultados foram expressos em g, para o peso do fruto inteiro, da polpa e da casca, em g/100 de peso fresco para a massa comestível do fruto (polpa e casca) e em percentagem para a proporção de casca em relação ao peso fresco.

2.2.5. Teor de água

O teor de água foi determinado por gravimetria de acordo com a técnica descrita pela AOAC (1990). As maçãs foram cortadas em pequenas fatias no sentido longitudinal, por forma a preservar a proporção de polpa e casca existente na amostra. Numa balança analítica (Mettler Toledo AB204, Greifensee, Suíça), pesaram-se cerca de 5 g de amostra (polpa + casca) num pesa filtros previamente seco em estufa WTC Binder E28 (Tuttlingen, Alemanha) a $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e tarado. De seguida a amostra foi desidratada em estufa a $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante duas horas. Posteriormente deixou-se arrefecer num exsicador durante uma hora e repetiu-se a pesagem. O teor de humidade foi calculado de acordo com a fórmula apresentada de seguida e os resultados expressos em g de água por 100 g de peso fresco (Eq. 2.1). Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$g \text{ (água)}/100 \text{ g} = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_3} \times 100 \quad \text{Eq. 2.1.}$$

onde P_1 é o peso do pesa-filtros com a amostra húmida (g), P_2 é o peso do pesa-filtros com a amostra seca (g) e P_3 é peso do pesa-filtros vazio (g).

2.2.6. Teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com a técnica descrita pela AOAC (1990). Tarou-se uma cápsula de porcelana (balança Mettler Toledo AB204, Greifensee, Suíça), após incineração numa mufla Heraeus-electronic (Hanau/Kleinostheim, Alemanha), a $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$, durante uma hora, e arrefecimento em exsicador. Seguidamente pesaram-se nessa cápsula cerca de 5 g de amostra (polpa + casca), proveniente de pequenas fatias de maçã cortadas no sentido longitudinal. A cápsula foi de novo aquecida em mufla a $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$ durante duas horas, período após o qual foi arrefecida em exsicador e pesada. O teor de cinzas foi calculado de acordo com a fórmula apresentada de seguida e os resultados expressos em g de cinzas por 100 g de peso fresco (Eq. 2.2). Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$g \text{ (cinzas)} / 100 \text{ g} = \frac{P_1 - P_2}{P_3} \times 100 \quad \text{Eq. 2.2.}$$

onde P_1 é o peso da cápsula com cinza (g), P_2 é o peso da cápsula vazia (g) e P_3 é o peso húmido da amostra (g).

2.2.7. Composição mineral

A determinação de minerais foi efetuada de acordo com Vandecasteele & Block (1993), com ligeiras alterações. As cinzas, obtidas aquando da determinação do teor de cinzas, foram digeridas durante uma hora em banho termostatzado (Memmert, Osara, Germany) a 95°C, três vezes com 10 mL de HNO_3 (1:1) e uma vez com 10 mL de HNO_3 (3,25%). Após 10 minutos, procedeu-se à filtração da solução com filtros Whatman n.º 1 para um balão volumétrico de 100 mL, lavando-se a cápsula com água desionizada, usada também para a aferição do balão. Foram preparadas soluções padrão de K, Mg, Ca, Na, Fe, Al, Mn, Zn, Ni e Mo com 1000 mg/L de cada um dos elementos em água desionizada, tendo-se determinado as concentrações de K, Mg, Ca, Na, Fe e Al por um espectrofotómetro de absorção atómica Zeenit 700 (Analytikjena, Jena, Germany) com atomização em chama e as concentrações de Mn, Zn, Ni e Mo no mesmo espectrofotómetro com atomização em tubo de grafite (Zeenit MPE60, Analytikjena, Jena, Germany). Foram preparados quatro padrões com concentrações diferentes e um branco, e foram traçadas curvas de calibração para cada elemento, sendo deduzida a correspondente equação da reta através de regressão linear. Os teores de cada elemento individual presentes nas amostras de maçã foram calculados de acordo com a fórmula apresentada de seguida e expressos em mg/100 g ou em µg/100 g de peso fresco, dependendo da concentração do composto (Eq. 2.3). Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$\text{mg (mineral)} / 100 \text{ g} = x_1 \times \left(\frac{V_1}{1000} \right) \times \left(\frac{100}{P_1} \right) \quad \text{Eq. 2.3.}$$

onde P_1 é o peso da amostra húmida (g), V_1 é o volume de solução aquosa resultante da digestão das cinzas (mL), e x_1 é a concentração desse elemento na solução aquosa (mg/L).

2.2.8. Azoto total

O teor de azoto total foi quantificado de acordo com a técnica descrita por Watts & Halliwell (1996), com ligeiras alterações. Numa primeira fase, pesaram-se cerca de 5 g de polpa e 2 g de casca (balança analítica Mettler Toledo AB204, Greifensee, Suíça) num tubo de digestão.

De seguida, adicionaram-se 10 mL de ácido sulfúrido (97%), uma porção de mistura catalisadora (100 g de sulfato de potássio + 1 g selénio negro em pó) e reguladores de ebulição.

As amostras foram digeridas a 360°C (digestor Tecator 2006, Hoganas, Suécia) até se apresentarem homogêneas e transparentes. Depois de arrefecidas, as amostras digeridas foram transferidas para balões de 100 mL, cujo volume foi aferido com água Milli-Q (Millipore, Molsheim, France) e, finalmente, foram filtradas por papel filtro Whatman n.º 1 para um frasco escuro, onde ficaram reservadas.

Numa segunda fase, colocaram-se 50 mL da solução de amostra digerida num tubo de destilação, juntamente com 50 mL de água Milli-Q e duas gotas de fenolftaleína. Procedeu-se posteriormente à alcalinização do meio, através da adição de uma solução de hidróxido de sódio (6N), até a solução adquirir uma coloração rosa. De seguida, num erlenmeyer de 250 mL, colocaram-se 50 mL de ácido bórico (20g/L) e 0,5 mL de solução indicadora de ácido bórico (0,2 g de vermelho de metilo em 100 mL de solução alcoólica 95% + 0,1 g de azul de metileno em 50 mL de solução alcoólica 95%). Efetuou-se depois uma destilação da solução em análise numa unidade destiladora (Kjeltec System 1002 Distilling Unit Tecator, Hoganäs, Suécia) e procedeu-se à recolha do destilado na solução de ácido bórico. Após a destilação, efetuou-se uma titulação da solução com ácido sulfúrico (0,02N). Os resultados foram calculados como se indica de seguida e expressos em mg de azoto por 100 g de peso fresco (polpa + casca, polpa ou casca) (Eq. 2.4). Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$mg\ (azoto)/100\ g = \frac{V_1 \times N \times V_2}{V_3 \times P_1} \times 1,4 \times 1000 \quad \text{Eq. 2.4.}$$

onde **N** é a normalidade do titulante (0,02 N), **P₁** é a massa de amostra seca utilizada na digestão (mg), **V₁** é o volume de H₂SO₄ 0,02N gasto na titulação (mL), **V₂** é o volume do balão volumétrico onde ficou reservado o digerido (mL) e **V₃** é o volume de amostra digerida utilizado na destilação (mL).

2.2.9. Fósforo total

O fósforo total foi determinado de acordo com a técnica descrita por Watts & Halliwell (1996), com ligeiras alterações. Esta técnica consiste na avaliação dos fosfatos presentes na amostra digerida, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio, cuja concentração pode ser determinada por espectrofotometria de absorção molecular (Watanabe & Olsen, 1965).

A digestão da amostra (cerca de 5 g de polpa e 2 g de casca) foi executada de acordo com o descrito anteriormente, a propósito da determinação do azoto total (2.2.9). De seguida, transferiram-se para balões volumétricos de 100 mL, 2 mL da solução da amostra digerida e uma gota de fenolftaleína e algumas gotas de solução de hidróxido de sódio 6N, até a solução assumir uma coloração rosa. Adicionaram-se subsequentemente 8 mL de agente redutor (250 mL de ácido sulfúrico 5N + 75 mL de molibdato de amónio (40 g/L) + 2,6 g de ácido ascórbico + 25 mL de tartarato de potássio e antimónio (2,8 g/L), em 500 mL) e aferiu-se com água Milli-Q. Aguardou-se 20 min e determinou-se a absorvância da solução a 880 nm (espectrofotómetro Shimadzu UV-120-11, Quioto, Japão). Foram preparadas soluções-padrão de fósforo (dihidrogenofosfato de potássio: Riedel-de Haën, Seelze, Alemanha) com concentrações de 0,025 mg/L a 0,25 mg/L, que foram submetidas aos mesmos procedimentos que os aplicados às soluções de amostras digeridas. A partir das absorvâncias das soluções resultantes da reação com os padrões de fósforo construiu-se uma reta de calibração, que foi posteriormente utilizada na determinação dos teores de fósforo das amostras. Os resultados foram expressos em mg de fósforo por 100 g de peso fresco (polpa + casca, polpa ou casca), depois de calculados de acordo com a fórmula apresentada de seguida (Eq. 2.5). Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$mg (fósforo) / 100 g = \left(\frac{X_1 \times V_1 \times V_3}{V_2 \times P_1} \right) \div 10 \quad \text{Eq. 2.5.}$$

onde P_1 é a massa da amostra seca (mg), V_1 é o volume do balão volumétrico utilizado na diluição da mistura reacional (mL), V_2 é o volume (mL) de solução de amostra digerida, utilizada na reação com o agente redutor, V_3 é o volume (mL) do balão volumétrico onde se diluiu a amostra digerida e X_1 é a concentração de fósforo da solução determinada a partir da reta de calibração e expressa em mg(P)/L.

2.2.10. Acidez titulável

O teor de acidez titulável foi calculado de acordo com o método descrito pela AOAC (1990). Adicionaram-se 100 g de polpa de maçã a 250 mL de água fervente e manteve-se em ebulição durante 1 hora. Durante este período perfez-se regularmente o referido volume com água. Depois de arrefecida, a solução foi filtrada sob vácuo (Millipore, Maidstone, England) com papel de filtro Whatman n.º 1, e o funil Buchner e o kitasato utilizados foram lavados com 150 mL de água. A solução filtrada e as soluções de lavagem foram transferidas para um balão volumétrico de 500 mL que foi aferido com água destilada. Uma alíquota desta solução (25 mL) foi diluída de 1:10 e um volume de 100 mL da solução diluída foi titulado na presença de fenolftaleína, utilizando uma solução de NaOH 0,1 N. A concentração de ácidos orgânicos totais foi apurada através da equação (Eq. 2.6) apresentada de seguida e os resultados obtidos

foram expressos em g de ácido málico por 100 g de amostra. Todas as determinações foram realizadas em duplicado.

$$g(\text{ácido málico})/100g = 0,005 \times V_{Tit} \times M \quad \text{Eq. 2.6.}$$

onde **M** é a massa molar do ácido málico (g/mol) e **V_{Tit}** é o volume de titulante gasto na titulação (mL).

2.2.11. Açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais

Os açúcares redutores, os açúcares não redutores e os açúcares totais foram determinados de acordo com a técnica descrita por Munson & Walker (NP 1419, 1998). Procedeu-se previamente à secagem de cadinhos de fundo filtrante em estufa (WTB binder E28, Tuttlingen, Alemanha) a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 30 minutos que foram, posteriormente, arrefecidos em exsiccador e pesados em balança analítica (Mettler Toledo AB204, Greifensee, Suíça). De seguida pesou-se a amostra (5 g de polpa + casca) para um balão de 100 mL, adicionou-se 25 mL de água destilada, 6,5 mL de solução de Carrez I (150 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}/\text{L}$) e 6,5 mL de solução de Carrez II (300 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{L}$). Perfez-se a 100 mL com água destilada, agitou-se e filtrou-se após a formação de um precipitado branco. Uma parte do filtrado foi submetido à inversão para determinação dos açúcares totais e a outra foi utilizada diretamente para a determinação dos açúcares redutores.

Açúcares redutores

Num copo de 200 mL colocaram-se 25 mL de solução de sulfato de cobre (69,278 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}/\text{L}$), 25 mL da solução alcalina tartárica [(346 g $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 100 g NaOH/L)] e um volume (V_1) da solução defecada, igual ou inferior a 50 mL, por forma a impedir a subsequente redução da totalidade do cobre. O copo foi coberto com um vidro de relógio e colocado sobre uma placa de aquecimento até o líquido entrar em ebulição, mantendo-se a essa temperatura durante 2 minutos. Deixou-se repousar o precipitado e filtrou-se sob vácuo, com o líquido ainda quente, através do cadinho de fundo filtrante preparado anteriormente. Por fim, lavou-se o copo e o precipitado de óxido cuproso com água aquecida a 60°C . Secou-se o cadinho em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 30min, arrefeceu-se no exsiccador e pesou-se.

Açúcares totais

Num balão de 100 mL adicionou-se uma quantidade igual ou inferior a 50 mL da solução defecada e 3,5 mL de ácido clorídrico concentrado a 37%. Depois de agitado, colocou-se o balão em banho termostatzado (Memmert, Osara, Germany) a $69 \pm 1^\circ\text{C}$ e contou-se 5 min, após o líquido no interior ter atingido a temperatura referida. Arrefeceu-se de imediato e, em seguida, neutralizou-se com a solução de hidróxido de sódio (0,1N) (30 g/100 mL) na presença do indicador de fenolftaleína. Adicionaram-se algumas gotas de ácido clorídrico diluído (HCl 3,7%: 5 mL de HCl concentrado + 45 mL de água destilada) até o meio ficar ligeiramente acidificado. Agitou-se e perfez-se o volume do balão com água destilada (V_2). Procedeu-se posteriormente como referido para os açúcares redutores, substituindo-se o volume V_1 da solução defecada pelo volume V_2 .

Açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores

Os resultados dos açúcares redutores (Eq. 2.7), dos açúcares não redutores (Eq. 2.9) e dos açúcares totais (Eq. 2.8) foram calculados de acordo com as funções descritas de seguida e expressos em g/100 g de peso fresco (polpa + casca). Todas as amostras foram realizadas em duplicado.

$$g \text{ (açúcares redutores)}/100g = \left(\frac{20 \times m_r}{V_1 \times m} \right) \quad \text{Eq. 2.7.}$$

$$g \text{ (açúcares totais)}/100g = \left(\frac{40 \times m_t}{V_2 \times m} \right) \quad \text{Eq. 2.8.}$$

$$g \text{ (açúcares não redutores)}/100g = \left(\frac{40 \times m_t}{V_2 \times m} - \frac{20 \times m_r}{V_1 \times m} \right) \times 0,95 \quad \text{Eq. 2.9.}$$

onde **m** é a massa (g) da amostra de maçã, **m_r** é a massa (g) de açúcar invertido, que na tabela do anexo da NP 1419 (1987) corresponde à massa de óxido cuproso obtido na determinação dos açúcares redutores, **m_t** é a massa (g) de açúcar invertido, que na tabela do anexo da NP 1419 (1987) corresponde à massa de óxido cuproso obtido na determinação dos açúcares totais, **V₁** é o volume (mL) do filtrado obtido após defecação e utilizado na determinação dos açúcares redutores e **V₂** é o volume (mL) do filtrado obtido após a defecação e inversão e utilizado na determinação dos açúcares totais.

2.2.12. Fibra total

A fibra total foi determinada de acordo com o método de Weende (Adrian *et al.*, 2000). Numa balança analítica (Mettler Toledo AB204, Greifensee, Suíça) pesou-se 3 g de polpa, ou 2 g de casca, para um erlenmeyer de 500 mL, ao qual se adicionou 150 mL de ácido sulfúrico (0,128N). O erlenmeyer foi posteriormente colocado numa placa de aquecimento e o seu conteúdo submetido à ebulição durante 30 min. Após este período procedeu-se à filtração do sobrenadante num cadinho de Gooch e à lavagem da restante fibra com água Milli-Q morna e filtrada no cadinho. A fibra que permaneceu no cadinho foi de seguida recolhida e colocada no erlenmeyer com a ajuda de uma espátula, ao qual se adicionou 150 mL de hidróxido de potássio (0,223N). O conteúdo do erlenmeyer foi novamente levado à ebulição durante mais 30 min. Procedeu-se de seguida à filtração e lavagem, como descrito anteriormente. O cadinho Gooch foi seco em estufa (WTB binder E28, Tuttlingen, Alemanha) a 130°C durante 2 horas e, posteriormente, arrefecido num exsicador. Depois de pesado o cadinho foi introduzido na mufla (Heraeus Electronic, Alemanha) fria e a amostra incinerada a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 3 horas. Por fim, desligou-se a mufla, deixou-se arrefecer o cadinho lentamente até 100°C, para de seguida o colocar no exsicador para arrefecer até à temperatura ambiente e pesá-lo novamente. Os resultados foram calculados como se mostra de seguida (Eq. 2.10) e expressos em g de fibra por 100 g de amostra (polpa + casca, polpa ou casca) fresca. Todas as amostras foram realizadas em duplicado.

$$g \text{ (fibra)}/100 \text{ g} = \frac{P_1 - P_2}{P_3} \times 100 \quad \text{Eq. 2.10.}$$

onde P_1 é o peso do cadinho após estufa (g), P_2 é o peso do cadinho após mufla (g) e P_3 é o peso da amostra (g).

2.2.13. Análise estatística

O tratamento estatístico foi executado no programa informático SPSS (IBM® SPSS® Statistics, versão 19, 2010). Efetuou-se a análise de variância com um fator (ANOVA a um fator) e executaram-se as comparações múltiplas das médias obtidas para cada variável através do teste de Tukey. Fixou-se o nível de significância estatística em $p < 0,05$ e a homogeneidade das variâncias, nomeadamente no que respeita a eventuais discrepâncias, foi analisada tal como enunciado por Toothaker (1993).

Para além da análise das médias das variáveis medidas para as maçãs individuais, foram também calculadas as médias de cada variável para o grupo das maçãs exóticas e para o grupo das maçãs tradicionais, ou para os grupos de maçãs segundo a sua origem geográfica.

Estas médias de grupos foram comparadas entre si utilizando as mesmas funções estatísticas, ou seja, a ANOVA a um fator e o Teste de Tukey.

Testou-se a existência de diferenças significativas entre as médias das amostras consideradas em cada grupo e caso existissem retirou-se desse grupo a amostra com um comportamento distinto de forma a poder comparar grupos homogêneos.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Peso dos frutos e relação polpa/casca

O peso médio dos exemplares das diversas variedades mostrou ser bastante heterogéneo (Tabela 2.10), muito embora as diferenças não possam ser consideradas estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabela 2.10. Peso do fruto inteiro, frações casca e polpa e relação polpa/casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

	Variedades	Fruto inteiro		Polpa do fruto inteiro (g)	Casca do fruto inteiro (g)	Casca/PE (%) ⁽²⁾	Razão polpa/casca ⁽³⁾
		Peso bruto (g) ⁽¹⁾	Peso edível (g)				
TRADICIONAIS	Porta da Loja	120,6 ± 20,9	116,1 ± 20,3	104,2 ± 19,4	11,9 ± 0,9	10,3	8,7
	Pardo Lindo	166,0 ± 34,5	161,2 ± 34,0	146,9 ± 32,7	14,4 ± 1,3	8,9	10,2
	Querina	182,8 ± 34,1	173,8 ± 35,1	153,8 ± 33,5	20,0 ± 1,6	11,5	7,7
	Pipo de Basto	145,8 ± 24,7	132,8 ± 24,4	115,4 ± 23,2	17,4 ± 1,2	13,1	6,6
	Maçã Verdeal	191,1 ± 32,0	174,6 ± 31,8	155,2 ± 30,1	19,4 ± 1,7	11,1	8,0
	Maçã Espelho	260,0 ± 68,3	246,2 ± 68,5	230,8 ± 66,0	15,5 ± 2,5	6,3	14,9
	Casa Nova Alcobça	145,4 ± 29,5	137,3 ± 29,3	120,4 ± 28,3	16,9 ± 1,0	12,3	7,1
	Camoesa da Azoia	222,3 ± 60,4	217,4 ± 60,4	199,2 ± 58,4	18,2 ± 1,9	8,4	10,9
	Maçã Cunha	103,3 ± 20,1	97,7 ± 20,3	84,7 ± 18,8	12,9 ± 1,5	13,2	6,6
	Maçã Branca	131,9 ± 22,4	125,3 ± 22,7	111,8 ± 21,5	13,5 ± 1,1	10,8	8,3
	Bravo de Esmolfe	170,3 ± 29,4	159,0 ± 29,4	140,9 ± 28,6	18,1 ± 0,8	11,4	7,8
	Média	167,2 ± 34,2	158,3 ± 34,2	142,1 ± 32,8	16,2 ± 1,4	10,7	8,8
EXTÓTICAS	Starking	147,0 ± 26,1	140,7 ± 26,5	125,4 ± 24,9	15,3 ± 1,6	10,8	8,2
	Jonagold	148,8 ± 24,8	137,7 ± 24,0	123,8 ± 22,8	13,9 ± 1,2	10,1	8,9
	Golden Delicious	154,2 ± 31,6	143,5 ± 31,5	128,9 ± 30,2	14,6 ± 1,3	10,2	8,8
	Fuji	146,4 ± 23,6	135,3 ± 23,8	122,1 ± 22,4	13,2 ± 1,4	9,7	9,3
	Reineta Parda	166,1 ± 18,4	159,2 ± 18,2	144,0 ± 17,2	15,2 ± 1,0	9,5	9,5
	Royal Gala	137,7 ± 19,4	130,5 ± 19,9	118,5 ± 19,0	12,0 ± 0,9	9,2	9,9
	Média	150,0 ± 24,0	141,1 ± 24,0	127,1 ± 22,7	14,0 ± 1,2	9,9	9,1

(1) Peso do fruto inteiro (com casca, pedúnculo e sementes). (2) Percentagem da casca (valor médio) em relação ao peso edível do fruto. (3) Valor médio obtido através da divisão do peso da polpa pelo peso da casca. PE – Peso edível.

O peso bruto médio das maçãs variou entre $103,3 \pm 20,1$ g (*Maçã Cunha*) e $260,0 \pm 68,3$ g (*Maçã Espelho*), e mostrou ser ligeiramente maior nas variedades tradicionais ($167,2 \pm 34,2$ g) do que nas cultivares exóticas ($150,0 \pm 24,0$ g).

As variedades tradicionais também mostraram possuir uma percentagem de casca mais elevada do que as cultivares exóticas, com valores médios de $16,2 \pm 1,4$ g e $14,0 \pm 1,2$ g de casca, respetivamente. O peso da casca nem sempre se mostrou proporcional ao tamanho do fruto, dado que algumas variedades demonstraram possuir uma casca mais grossa do que

outras. De facto, o peso da casca variou entre $20,0 \pm 1,6$ g (*Querina*) e $11,9 \pm 0,9$ g (*Porta da Loja*) de casca/fruto inteiro.

No que concerne à relação entre o peso da casca e o peso do fruto inteiro (parte edível), as variedades *Maçã Cunha* (13,2%) e *Pipo de Basto* (13,1%) foram aquelas que evidenciaram maior proporção de casca face ao peso edível (somatório de polpa e casca), em contraste com a *Maçã Espelho* (6,3%) que registou o valor mais baixo. Estes dados estão conducentes com a literatura (Łata *et al.*, 2009; Łata, 2007a; Veberic *et al.*, 2005) e permitem concluir que, em média, a casca representa cerca de 10% da parte comestível do fruto – que por sua vez constitui cerca de 94% do peso bruto –, e que as variações existentes entre as maçãs dependem em grande medida do tamanho, da forma e da espessura do fruto, em consonância com o descrito por Veberic *et al.*, (2005). Outro dado que importa ressaltar relaciona-se com o facto de, uma vez que os compostos bioativos se encontram concentrados sobretudo na casca das maçãs, o consumo do fruto com casca é especialmente importante naquelas variedades cuja percentagem de casca é superior. Comparando as variedades tradicionais e as exóticas depreende-se que existe maior homogeneidade nos valores obtidos entre as maçãs que compõem este último grupo.

No que concerne à razão polpa/casca, os valores apurados ficaram compreendidos entre 6,6 (*Pipo de Basto* e *Maçã Cunha*) e 14,9 (*Maçã Espelho*), e mostraram que a polpa é mais representativa, face à casca, nas variedades exóticas do que nas variedades tradicionais.

2.3.2. Teor de água

O teor de água das maçãs estudadas variou entre $78,92 \pm 0,41\%$ PF (*Pardo Lindo*) e $84,62 \pm 0,28\%$ PF (*Maçã Espelho*) nas cultivares tradicionais e entre $79,01 \pm 0,27\%$ PF (*Reineta Parda*) e $82,4 \pm 0,03\%$ PF (*Royal Gala*) nas variedades exóticas, valores que estão em consonância com a literatura (USDA, 2011; APRIFEL, 2010; INSA, 2006; DANE, 2011; Schmidt-Hebbel *et al.*, 1992; Reyes-García *et al.*, 2009; Nogueira *et al.*, 2007). Os valores apurados mostram que existem diferenças significativas ($p < 0,05$) no teor de água das diferentes variedades de maçãs (Tabela 2.12), mesmo que provenientes da mesma localização geográfica (Tabela 2.11). Almeida & Pintado (2007) reportam teores de água de 84,2 e 84,3% PF para as variedades *Casa Nova de Alcobça* e *Starking*, respetivamente, e uma amplitude de valores compreendida entre 81,7 e 87,7% PF, para todas as variedades estudadas. Feliciano e colaboradores obtiveram igualmente valores muito semelhantes aos referidos: 81,38%, 83,25%, 81,64%, 82,00% e 79,54% PF, respetivamente para as variedades *Bravo de Esmolfe*, *Golden*, *Starking*, *Fuji* e *Reineta Parda*, e uma gama de valores entre 78,12 e 83,50% PF para o conjunto das cultivares estudadas (Feliciano *et al.*, 2010).

As variedades tradicionais mostraram possuir um teor de água médio ligeiramente superior ao das variedades exóticas – $81,64 \pm 0,34\%$ e $80,76 \pm 0,19\%$ PF (valores médios), respetivamente – (Tabela 2.11), muito embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente relevantes ($p > 0,05$). Quando se compararam as médias do teor de água de variedades de maçãs provenientes de diferentes regiões, verificou-se que as variedades da região de Alcobaça apresentaram um teor de água médio significativamente superior ($p < 0,05$) ao das maçãs provenientes das restantes origens, com exceção das maçãs do concelho de Sesimbra (Tabela 2.12). No entanto, dado que também as variedades das maçãs provenientes da região de Alcobaça são de variedades distintas das maçãs provenientes das outras regiões, o seu maior teor de água tanto pode resultar de diferenças genéticas e fisiológicas entre as maçãs como das condições edafoclimáticas.

Tabela 2.11. Teor em água, cinzas e composição mineral de 17 variedades de maçãs de Portugal.

		Valores expressos por 100 g de peso fresco					
Variedades		Água (%)	Cinzas (g/100 g)	K (mg/100 g)	Mg (mg/100 g)	Ca (mg/100 g)	Na (mg/100 g)
TRADICIONAIS	Porta da Loja	80,21 ± 0,22 ^{abc}	1,38 ± 0,01 ^{bcd}	111,76 ± 0,12 ^{cd}	6,52 ± 0,13 ^f	2,86 ± 0,13 ^d	1,56 ± 0,10 ^{abcd}
	Pardo Lindo	78,92 ± 0,41^a	1,21 ± 0,00 ^{abcd}	142,44 ± 0,30 ^f	5,09 ± 0,09 ^{cde}	3,41 ± 0,18 ^g	1,73 ± 0,08 ^{bcde}
	Querina	82,07 ± 0,14 ^{def}	1,12 ± 0,33 ^{abc}	138,14 ± 0,14 ^{ef}	6,18 ± 0,10 ^{ef}	3,19 ± 0,17 ^f	3,27 ± 0,30 ^{ijk}
	Pipo de Basto	82,24 ± 0,57 ^{ef}	1,15 ± 0,01 ^{abc}	101,99 ± 1,17 ^{cd}	2,67 ± 0,05^a	3,39 ± 0,01 ^g	1,12 ± 0,05^a
	Maçã Verdeal	81,30 ± 0,23 ^{cde}	1,31 ± 0,01 ^{abcd}	110,99 ± 0,44 ^{cd}	4,85 ± 0,13 ^{bcd}	2,87 ± 0,06 ^d	1,18 ± 0,07 ^{ab}
	Maçã Espelho	84,62 ± 0,28^h	0,99 ± 0,01^a	69,99 ± 0,12^a	3,77 ± 0,05 ^{ab}	2,50 ± 0,15 ^c	2,14 ± 0,20 ^{def}
	Casa Nova de Alcobaça	84,22 ± 0,33 ^{gh}	1,01 ± 0,03 ^b	93,78 ± 0,97 ^{bc}	4,59 ± 0,08 ^{bc}	1,32 ± 0,01^a	1,45 ± 0,19 ^{ab}
	Camoesa da Azoia	79,1 ± 0,08 ^a	1,51 ± 0,03^d	105,72 ± 0,81 ^{cd}	5,65 ± 0,08 ^{cdef}	3,59 ± 0,17 ⁱ	3,27 ± 0,44 ^{ijk}
	Maçã Cunha	82,95 ± 0,56 ^{fg}	1,10 ± 0,03 ^{abc}	113,13 ± 0,31 ^{cd}	6,11 ± 0,08 ^{ef}	2,23 ± 0,03 ^b	2,83 ± 0,47 ^{hij}
	Maçã Branca	83,31 ± 0,75 ^{fgh}	1,08 ± 0,01 ^{ab}	142,90 ± 1,50 ^f	5,25 ± 0,10 ^{cde}	3,46 ± 0,10 ^h	2,06 ± 0,03 ^{cde}
	Bravo de Esmolfe	79,41 ± 0,22 ^{ab}	1,35 ± 0,01 ^{bcd}	138,58 ± 0,94 ^{ef}	4,74 ± 0,11 ^{bcd}	2,21 ± 0,13 ^b	1,48 ± 0,21 ^{abc}
Média		81,67 ± 0,34	1,20 ± 0,04	115,40 ± 0,62	5,04 ± 0,09	2,82 ± 0,10	2,01 ± 0,19
EXTÓTICAS	Starking	82,06 ± 0,03 ^{def}	1,24 ± 0,01 ^{abcd}	118,63 ± 1,32 ^{de}	5,68 ± 0,1 ^{cdef}	4,23 ± 0,15^j	2,24 ± 0,36 ^{efg}
	Jonagold	81,09 ± 0,15 ^{cde}	1,41 ± 0,01 ^{cd}	81,07 ± 0,83 ^{ab}	5,41 ± 0,05 ^{cdef}	4,18 ± 0,11 ^j	3,50 ± 0,40^k
	Golden Delicious	80,71 ± 0,45 ^{bcd}	1,42 ± 0,04 ^{cd}	151,10 ± 1,07^f	6,63 ± 0,17^f	3,22 ± 0,11 ^f	2,74 ± 0,31 ^{ghi}
	Fuji	79,3 ± 0,22 ^a	1,49 ± 0,02 ^d	151,48 ± 0,08 ^f	6,64 ± 0,17 ^f	3,13 ± 0,10 ^e	3,26 ± 0,44 ^{ijk}
	Reineta Parda	79,01 ± 0,27 ^a	1,34 ± 0,02 ^{bcd}	145,89 ± 1,15 ^f	5,55 ± 0,10 ^{cdef}	2,89 ± 0,11 ^d	3,32 ± 0,17 ^{jk}
	Royal Gala	82,40 ± 0,03 ^{ef}	1,21 ± 0,01 ^{abcd}	98,32 ± 0,71 ^{bc}	5,88 ± 0,06 ^{def}	3,55 ± 0,14 ⁱ	2,65 ± 0,42 ^{fgh}
Média		80,76 ± 0,19	1,35 ± 0,02	124,41 ± 0,86	5,97 ± 0,11	3,53 ± 0,12	2,95 ± 0,35

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

Tabela 2.11. (Continuação)

		Valores expressos por 100 g de peso fresco					
Variedades		Fe (mg/100 g)	Al (mg/100 g)	Mn (µg/100 g)	Zn (µg/100 g)	Ni (µg/100 g)	Mo (µg/100 g)
TRADICIONAIS	Porta da Loja	0,12 ± 0,09 ^{bcd}	0,09 ± 0,04 ^c	48,08 ± 0,55 ^{efg}	36,36 ± 0,01 ^b	2,87 ± 0,06 ^c	3,32 ± 0,86 ^c
	Pardo Lindo	0,14 ± 0,01 ^d	0,17 ± 0,01 ^e	41,95 ± 0,07 ^{de}	88,79 ± 0,01 ^{fg}	7,60 ± 0,66 ^m	2,56 ± 0,64 ^{bc}
	Querina	0,09 ± 0,02 ^a	0,02 ± 0,01^a	26,12 ± 0,63 ^{bc}	81,77 ± 0,04 ^{fg}	14,17 ± 0,51^q	3,01 ± 0,34 ^{bc}
	Pipo de Basto	0,09 ± 0,03^a	0,02 ± 0,01 ^a	25,83 ± 0,15 ^{bc}	20,7 ± 0,01 ^a	1,64 ± 0,71^a	3,08 ± 0,52 ^{bc}
	Maçã Verdeal	0,11 ± 0,04 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	51,43 ± 1,06^g	55,62 ± 0,01 ^c	4,40 ± 0,62 ^e	0,49 ± 0,22^a
	Maçã Espelho	0,18 ± 0,01 ^e	0,22 ± 0,01 ^f	20,79 ± 0,36 ^b	61,38 ± 0,03 ^{cd}	4,85 ± 0,08 ^h	4,82 ± 0,33 ^{de}
	Casa Nova de Alcobaça	0,13 ± 0,02 ^{cd}	0,16 ± 0,03 ^e	28,35 ± 0,67 ^c	77,95 ± 0,01 ^{ef}	6,16 ± 0,18 ^j	3,85 ± 0,15 ^{cd}
	Camoesa da Azoia	0,22 ± 0,06 ^f	0,06 ± 0,02 ^b	22,61 ± 0,25 ^{bc}	69,18 ± 0,02 ^{de}	5,47 ± 0,32 ⁱ	6,10 ± 0,28 ^{efg}
	Maçã Cunha	0,10 ± 0,01 ^{ab}	0,12 ± 0,01 ^d	39,28 ± 0,90 ^d	82,58 ± 0,03 ^{fg}	9,72 ± 0,68 ⁿ	3,05 ± 0,38 ^{bc}
	Maçã Branca	0,10 ± 0,02 ^{ab}	0,13 ± 0,02 ^d	49,79 ± 0,50 ^{fg}	79,80 ± 0,07 ^{efg}	6,30 ± 0,60 ^k	1,78 ± 0,21 ^{ab}
	Bravo de Esmolfe	0,25 ± 0,03 ^g	0,32 ± 0,03 ^g	13,85 ± 0,25^a	89,37 ± 0,01 ^g	13,66 ± 0,77 ^p	7,65 ± 0,75^h
	Média	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,02	33,46 ± 0,49	67,59 ± 0,02	6,99 ± 0,47	3,61 ± 0,43
EXTÓTICAS	Starking	0,22 ± 0,12 ^f	0,72 ± 0,06^j	37,74 ± 0,68 ^d	19,13 ± 0,01 ^a	3,42 ± 0,33 ^d	6,42 ± 14,83 ^{fgh}
	Jonagold	0,17 ± 0,01 ^d	0,21 ± 0,02 ^a	27,14 ± 0,40 ^c	89,40 ± 0,04^g	12,14 ± 0,71 ^o	5,31 ± 0,32 ^{ef}
	Golden Delicious	0,33 ± 0,08 ⁱ	0,51 ± 0,02 ^h	48,30 ± 0,33 ^{efg}	22,77 ± 0,01 ^a	2,35 ± 0,28 ^b	0,60 ± 0,15 ^a
	Fuji	0,37 ± 0,10^j	0,66 ± 0,09 ⁱ	43,87 ± 0,14 ^{def}	19,07 ± 0,02 ^a	4,49 ± 0,17 ^f	6,97 ± 0,52 ^{gh}
	Reineta Parda	0,31 ± 0,07 ^h	0,08 ± 0,02 ^c	48,29 ± 0,15 ^{efg}	86,53 ± 0,04 ^{fg}	7,22 ± 0,13 ^l	5,46 ± 0,73 ^{ef}
	Royal Gala	0,26 ± 0,01 ^g	0,33 ± 0,01 ^g	38,54 ± 0,59 ^d	19,06 ± 0,01^a	4,62 ± 0,49 ^g	5,78 ± 0,41 ^{efg}
	Média	0,28 ± 0,06	0,42 ± 0,04	40,64 ± 0,38	42,66 ± 0,02	5,71 ± 0,35	5,09 ± 2,83
Médias designadas com letras diferente apresentam diferenças significativas (p < 0,05).							

Tabela 2.12. Teor em água, cinzas e composição mineral para as diferentes variedades de maçãs agrupadas segundo o seu tipo (tradicional/exótica) e origem geográfica.

Componente	Origem Geográfica						Variedades Exóticas
	Variedades Tradicionais						
	Minho	Viseu	Alcobaça	Torres Vedras (Tradicionais) ⁽¹⁾	Sesimbra	Média (Tradicionais)	
Humidade (%)	80,21 ± 0,22 ^a	81,13 ± 1,44 ^a	84,42 ± 0,34 ^b	79,41 ± 0,23 ^a	81,79 ± 2,13 ^{ab}	81,67 ± 2,01	80,76 ± 1,34 ^a
Cinzas (%)	1,38 ± 0,01 ^b	1,20 ± 0,15 ^{ab}	1,00 ± 0,02 ^a	1,35 ± 0,01 ^b	1,23 ± 0,22 ^{ab}	1,20 ± 0,18	1,35 ± 0,11 ^b
K (mg/100 g)	111,76 ± 0,69 ^{ab}	123,39 ± 18,69 ^{ab}	81,89 ± 14,14 ^a	138,59 ± 5,66 ^b	120,59 ± 18,20 ^{ab}	115,40 ± 22,89	124,41 ± 28,91 ^{ab}
Mg (mg/100 g)	6,52 ± 0,40 ^b	4,70 ± 1,38 ^{ab}	4,18 ± 0,50 ^a	4,74 ± 0,33 ^{ab}	5,67 ± 0,44 ^{ab}	5,04 ± 1,11	5,97 ± 0,58 ^{ab}
Ca (mg/100 g)	2,87 ± 0,01 ^{abc}	3,21 ± 0,23 ^{bc}	1,91 ± 0,68 ^a	2,21 ± 0,01 ^{ab}	3,07 ± 0,67 ^{bc}	2,82 ± 0,68	3,53 ± 0,54 ^b
Na (mg/100 g)	1,57 ± 0,05 ^{ab}	1,82 ± 0,93 ^{ab}	1,80 ± 0,41 ^{ab}	1,49 ± 0,11 ^a	2,72 ± 0,56 ^{ab}	2,10 ± 0,77	2,95 ± 0,48 ^b
Fe (mg/100 g)	0,12 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,03 ^{ab}	0,28 ± 0,07 ^{bc}	0,14 ± 0,06 ^{ab}	0,1 ± 0,1	0,28 ± 0,07 ^b
Al (mg/100 g)	0,09 ± 0,01 ^{ab}	0,06 ± 0,07 ^a	0,19 ± 0,03 ^{ab}	0,32 ± 0,00 ^{ab}	0,10 ± 0,04 ^{ab}	0,1 ± 0,1	0,42 ± 0,24 ^b
Mn (µg/100 g)	48,08 ± 1,66 ^b	36,34 ± 11,72 ^{bc}	24,57 ± 4,56 ^{ab}	13,85 ± 0,75 ^a	37,23 ± 12,34 ^{bc}	33,5 ± 12,8	40,65 ± 7,72 ^{bc}
Zn (µg/100 g)	36,37 ± 1,32 ^a	61,72 ± 28,61 ^a	69,67 ± 9,72 ^a	89,374 ± 1,29 ^a	77,19 ± 7,30 ^a	67,6 ± 21,9	42,66 ± 33,55 ^a
Ni (µg/100 g)	2,88 ± 0,01 ^a	6,95 ± 4,99 ^{ab}	5,51 ± 0,76 ^a	13,66 ± 0,03 ^b	7,17 ± 2,02 ^{ab}	7,0 ± 4,0	5,71 ± 3,38 ^a
Mo (µg/100 g)	3,32 ± 0,04 ^a	2,29 ± 1,13 ^a	4,33 ± 0,56 ^{ab}	7,65 ± 0,08 ^b	3,64 ± 1,99 ^a	3,6 ± 1,9	5,09 ± 2,23 ^{ab}

Médias designadas com letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

(1) *Bravo de Esmolfe*. (2) *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Royal Gala*.

2.3.3. Teor de cinzas

As variedades tradicionais mostraram possuir um teor de cinzas médio ligeiramente superior ($1,20 \pm 0,04$ g/100 g PF) ao das variedades exóticas ($1,35 \pm 0,02$ g/100 g PF) (Tabela 2.11). No grupo das variedades tradicionais a amplitude de valores ficou compreendida entre $0,99 \pm 0,01$ (*Maçã Espelho*) e $1,51 \pm 0,03$ g/100 g PF (*Camoesa da Azoia*) e nas exóticas entre $1,49 \pm 0,02$ g/100 g PF (*Fuji*) e $1,21 \pm 0,01$ g/100 g PF (*Royal Gala*), valores que estão de acordo com estudos anteriores (Almeida & Pintado, 2007; Guiné *et al.*, 2008; Campeanu *et al.*, 2009).

O teor de cinzas apurado para as variedades *Camoesa da Azoia* e *Fuji* mostrou ser significativamente superior ($p < 0,05$) ao das restantes variedades, sobretudo ao da *Maçã Espelho* (Tabela 2.11). Comparando os grupos das diferentes proveniências, verificou-se que as cultivares colhidas na região de Alcobaça evidenciaram um teor de cinzas médio inferior à média apurada para as maçãs com origem em outras regiões e significativamente inferior ($p < 0,05$) à média obtida para as maçãs de Torres Vedras e do Minho. Uma vez que o teor de cinzas foi expresso em peso fresco, é natural que este apresente uma variação relativa simétrica da observada para o teor de água.

2.3.4. Composição mineral

O conteúdo dos diversos minerais analisados demonstrou uma heterogeneidade semelhante àquela que se encontra referida na literatura (Henríquez *et al.*, 2010a; Feliciano *et al.*, 2010; INSA, 2006; USDA, 2011; APRIFEL, 2010; Gorinstein *et al.*, 2001; Mayer, 1997; Schmidt-Hebbel *et al.*, 1992) (Tabela 2.11 e Tabela 2.12). Todavia, importa salientar algumas diferenças que sobressaem em relação a variedades que são comuns entre estudos, e que poderão estar relacionadas com o facto da concentração de minerais e de oligoelementos das plantas serem fortemente influenciados por uma série de condicionantes, nomeadamente a variedade da planta, as condições do solo, as condições climáticas aquando do crescimento, a utilização de fertilizantes e o estado de maturação do fruto no momento da colheita (Ekholm *et al.*, 2007).

Em análise mais detalhada, verificou-se que os teores mais elevados (valores expressos por 100 g PF) de K (151,48 mg), Mg (6,64 mg) e de Fe (0,37 mg) foram observados na variedade *Fuji*, de Ca (4,23 mg) e de Al (0,73 mg) na maçã *Starking*, de Na (3,50 mg) e de Zn (89,40 µg) na variedade *Jonagold*, de Mn (51,43 µg) na *Maçã Verdeal*, de Ni (14,17 µg) na variedade *Querina*, e de Mo (7,65 µg) na variedade *Bravo de Esmolfe* (Tabela 2.11).

De entre as variedades tradicionais, os teores mais elevados (valores expressos por 100 g PF) de Fe (0,25 mg), de Al (0,32 mg), de Zn (89,37 µg) e de Mo (7,64 µg) foram evidenciados pela variedade *Bravo de Esmolfe*, os elementos Na (3,27 mg) e Ni (14,17 µg) pela cultivar *Querina*,

e os elementos K (142,44 mg), Mg (6,52 mg), Ca (3,59 mg) e Mn (51,43 µg), respetivamente, pelas variedades *Pardo Lindo*, *Porta da Loja*, *Camoesa da Azoia* e *Maçã Verdeal*.

A maçã *Camoesa da Azoia*, também conhecida na região de Sesimbra por *Maçã Férrea*, devido à sua coloração cor de ferro e por se julgar possuir concentrações elevadas deste oligoelemento, não apresenta, na realidade, teores tão elevados deste mineral que justifiquem o nome que lhe foi atribuído. Ainda assim, a *Camoesa da Azoia* mostrou ser a sexta variedade com maior concentração de ferro, de entre as 17 variedades estudadas.

No que concerne às variedades exóticas, os teores mais elevados (valores expressos por 100 g PF) de K (151,45 mg), de Mg (6,64 mg), de Fe (0,37 mg) e de Mo (6,97 µg) foram obtidos pela variedade *Fuji*, de Na (3,50 mg), de Zn (89,40 µg) e de Ni (12,14 µg) pela cultivar *Jonagold*, de Ca (4,23 mg) e de Al (0,72 mg) pela variedade *Starking*, e de Mn (48,30 µg) pela variedade *Golden Delicious*.

Verificou-se a ocorrência de variações substanciais ($p < 0,05$) entre diversas variedades para todos os minerais analisados, sobretudo no caso do Ni, onde todas as variedades mostraram diferenças significativas entre si. As variedades *Fuji*, *Starking* e *Querina* evidenciaram teores significativamente superiores de Fe, Al e Ni, respetivamente, em relação a todas as restantes variedades. Por outro lado, as maçãs *Espelho*, *Casa Nova de Alcobaça*, *Bravo de Esmolfe* e *Pipo de Basto* revelaram possuir quantidades significativamente inferiores a todas as restantes variedades, no que respeita aos minerais K, Ca, Mn e Ni, respetivamente.

Analisando a proveniência geográfica, depreende-se que as maçãs provenientes da região de Torres Vedras evidenciaram em média teores mais elevados de K, Ca, Na, Fe, Al e Mo, mas concentrações relativamente reduzidas de Zn (49,34 µg/100 g PF, integrando a variedade *Bravo de Esmolfe*), do que as cultivares de outras origens (Tabela 2.12). Ao isolar-se a variedade *Bravo de Esmolfe* do agrupamento geográfico de Torres Vedras, a única variedade tradicional colhida nesta origem, observou-se que esta se destacava do grupo onde se encontrava inserida por possuir um teor mais elevado (valores expressos por 100 g PF) de K (138,59 mg) e de Mo (7,65 µg), mas também de Zn (89,37 µg) e de Ni (13,66 µg), valores que foram, de resto, os mais elevados, comparando as restantes proveniências. Confrontando com os valores obtidos por Feliciano *et al.* (2010) para esta variedade (com origem em Mangualde) pode depreender-se que, de facto, as características climáticas e do solo e a exposição solar, entre outras possíveis, e já citadas neste capítulo, parecem influenciar a composição mineral (Pandey *et al.*, 2013; Ekholm *et al.*, 2007). Se por um lado os teores de K, Mg, Ca e de Na se mostraram semelhantes entre o trabalho aqui apresentado e o de Feliciano *et al.* (2010), a *Bravo de Esmolfe* cultivada em Torres Vedras mostrou teores superiores de Fe, de Al, de Mn, de Zn, de Ni e de Mo. Variações semelhantes em diversos compostos minerais podem ser igualmente encontradas no referido estudo e em outros que analisaram algumas das

variedades aqui apresentadas, nomeadamente *Golden Delicious*, *Starking*, *Fuji* e *Reineta Parda* (Feliciano *et al.*, 2010; Nogueira *et al.*, 2007; Henríquez *et al.*, 2010a).

Ainda no que concerne à análise geográfica, importa salientar que as variedades de Sesimbra destacaram-se por revelarem um teor de Zn muito elevado (77,19 µg/100 g PF), cerca de 2 vezes superior ao apurado para a média das variedades exóticas de Torres Vedras, que evidenciaram baixas concentrações deste elemento, sobretudo as variedades *Royal Gala*, *Fuji*, *Starking* e *Golden Delicious*. A maçã *Porta da Loja*, o único exemplar proveniente do Minho, também se distingue de todos os grupos formados com base na origem das amostras, por evidenciar as concentrações mais elevadas de Mg (6,52 mg/100 g PF) e de Mn (48,08 µg/100 g PF). Todavia os valores apurados mostram que as diferenças enunciadas não podem ser consideradas estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

2.3.5. Azoto

As variedades estudadas demonstraram possuir teores de azoto muito distintos entre si, com valores compreendidos entre $20,71 \pm 0,78$ mg/100 g PF (*Querina*) e $48,14 \pm 0,03$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*) na polpa, entre $61,42 \pm 0,07$ mg/100 g PF (*Pipo de Basto*) e $137,07 \pm 0,11$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*) na casca, e entre $27,51 \pm 0,91$ mg/100 g PF (*Querina*) e $56,62 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*) no fruto inteiro (Figura 2.1). No que concerne ao fruto (polpa + casca), os valores apurados estão de acordo com aqueles apresentados em algumas tabelas de composição de alimentos (INSA, 2006; USDA, 2011; APRIFEL, 2010; Schmidt-Hebbel *et al.*, 1992), bem como por Henríquez *et al.* (2010a), mas são superiores àqueles apresentados por Feliciano *et al.* (2010) (9,6 a 16,0 mg/100 g PF). Comparando os resultados apurados na polpa com o estudo conduzido por Feliciano *et al.* (2010) – que no que diz respeito à fração polpa só reporta o teor existente na variedade *Bravo de Esmolfe* (12,8 mg/100 g PF) –, os valores apurados pelo trabalho aqui apresentado revelam teores de azoto superiores em todas as variedades o que, apesar de estar em desacordo com o estudo citado, está de acordo com a informação extraída da Tabela de Composição de Alimentos Portugueses para a mesma fração do fruto (32,0 mg/100 g PF) (INSA, 2006). Excetuando estes trabalhos, não foram encontrados outros dados bibliográficos que permitissem a comparação das porções polpa e casca.

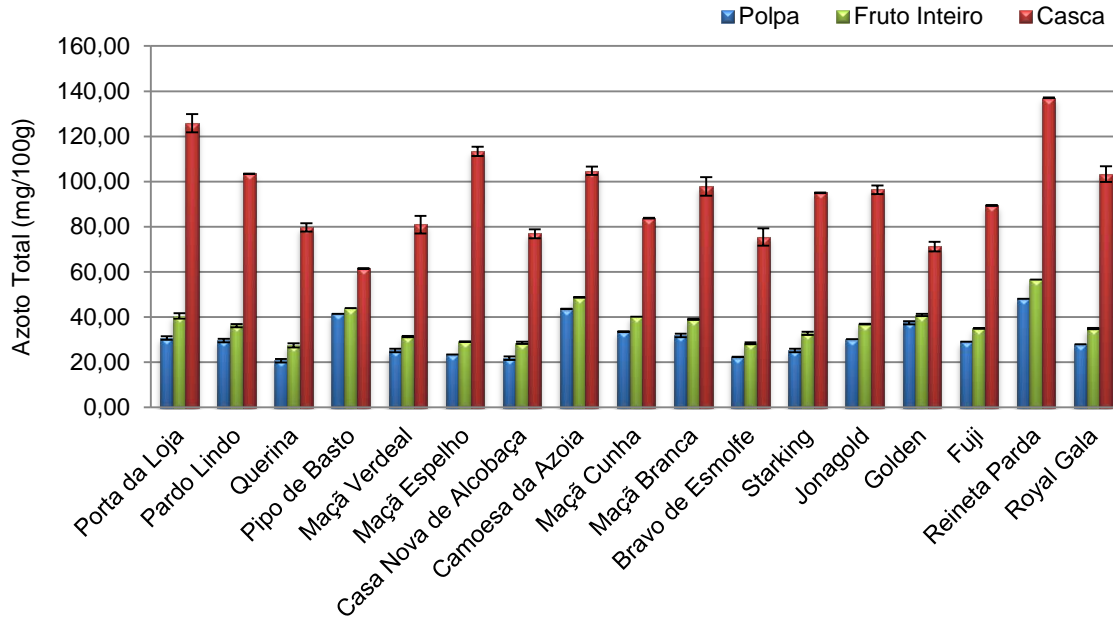


Figura 2.1. Azoto total em polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de Portugal.

Grande parte do teor de azoto encontra-se alojado na casca, como mostram os dados apurados que evidenciam que este é entre 1,5 (*Pipo de Basto*) e 4,8 (*Maçã Espelho*) vezes superior ao teor existente na polpa (Tabela 2.13).

Tabela 2.13. Teor de azoto de 17 variedades de maçãs de Portugal.

	Variedades	mg/100 g de peso fresco			Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
		Polpa	Casca	Fruto (polpa+casca)	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	30,77 ± 0,81 ^{ef}	125,87 ± 4,03 ⁱ	40,53 ± 1,15 ^e	4,1
	Pardo Lindo	29,63 ± 0,78 ^{de}	103,40 ± 0,07 ^{fg}	36,20 ± 0,72 ^{cd}	3,5
	Querina	20,71 ± 0,78^a	79,71 ± 1,87 ^{bc}	27,51 ± 0,91^a	3,9
	Pipo de Basto	41,43 ± 0,01 ⁱ	61,42 ± 0,07^a	44,04 ± 0,01 ^f	1,5
	Maçã Verdeal	25,17 ± 0,79 ^c	80,93 ± 3,92 ^{cd}	31,35 ± 0,27 ^b	3,2
	Maçã Espelho	23,49 ± 0,01 ^{bc}	113,33 ± 2,04 ^h	29,13 ± 0,14 ^a	4,8
	Casa Nova de Alcobaça	21,82 ± 0,78 ^{ab}	76,91 ± 1,96 ^{bc}	28,60 ± 0,45 ^a	3,5
	Camoesa da Azoia	43,63 ± 0,02 ^j	104,74 ± 1,87 ^{gh}	48,74 ± 0,13 ^g	2,4
	Maçã Cunha	33,63 ± 0,01 ^g	83,81 ± 0,10 ^{cd}	40,21 ± 0,00 ^e	2,5
	Maçã Branca	31,88 ± 0,81 ^{fg}	97,85 ± 4,10 ^{efg}	39,00 ± 0,28 ^e	3,1
	Bravo de Esmolfe	22,37 ± 0,01 ^{ab}	75,42 ± 3,83 ^{bc}	28,42 ± 0,42 ^a	3,4
	Média	29,49 ± 0,44	91,22 ± 2,17	35,79 ± 0,41	3,3
EXTÓTICAS	Starking	25,18 ± 0,79 ^c	95,02 ± 0,18 ^{ef}	32,76 ± 0,69 ^b	3,8
	Jonagold	30,21 ± 0,02 ^{ef}	96,41 ± 1,90 ^{efg}	36,90 ± 0,18 ^d	3,2
	Golden Delicious	37,49 ± 0,75 ^h	71,20 ± 2,14 ^b	40,92 ± 0,45 ^e	1,9
	Fuji	29,09 ± 0,04 ^{de}	89,40 ± 0,03 ^{de}	34,96 ± 0,03 ^{cd}	3,1
	Reineta Parda	48,14 ± 0,03^k	137,07 ± 0,11^j	56,62 ± 0,01^h	2,8
	Royal Gala	27,98 ± 0,01 ^d	103,27 ± 3,50 ^{fg}	34,89 ± 0,31 ^c	3,7
	Média	33,01 ± 0,27	98,73 ± 1,31	39,51 ± 0,28	3,1

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

A variedade *Reineta Parda* evidenciou um teor de azoto consideravelmente superior (p < 0,05) a todas as restantes variedades, exóticas e tradicionais, no fruto inteiro e nas frações polpa e casca. Por outro lado, o teor de azoto da casca da maçã *Pipo de Basto* demonstrou ser consideravelmente menor do que em todas as demais variedades. Já no caso da polpa e do fruto inteiro, a concentração mais reduzida foi registada pela variedade *Querina*, que revelou afinidades com as variedades *Casa Nova de Alcobaça*, *Bravo de Esmolfe* e *Maçã Espelho* (esta última apenas para o fruto inteiro), e diferenças significativas (p < 0,05) com todas as restantes.

Analisando os dados com base na origem geográfica das diversas variedades, verificou-se que não foram encontradas diferenças relevantes (p > 0,05) no teor de azoto no que concerne à fração polpa e ao fruto inteiro (Tabela 2.14). Contudo, relativamente à casca, a variedade *Porta da Loja*, proveniente da região do Minho, mostrou possuir uma concentração de azoto significativamente superior (p < 0,05) (125,87 ± 4,03 mg/100 g PF) ao apurado para as variedades de Viseu (81,37 ± 16,00 mg/100 g PF) e para a variedade *Bravo de Esmolfe* (75,43 ± 3,83 mg/100 g PF), a única variedade tradicional colhida na região de Torres Vedras. As variedades de Sesimbra demonstraram possuir teores médios de azoto superiores a todas as

restantes proveniências, quando analisadas a fração polpa ($36,36 \pm 5,69$ mg/100 g PF) e o fruto inteiro ($42,65 \pm 4,75$ mg/100 g PF), porém, sem significância estatística ($p > 0,05$).

Tabela 2.14. Valores médios de azoto e fósforo para o fruto inteiro, polpa e casca das diferentes variedades de maçãs, agrupadas segundo o seu tipo (tradicional/exótica) e origem geográfica.

Componente	Origem Geográfica						Variedades Exóticas
	Variedades Tradicionais						
	Minho	Viseu	Alcobaça	Torres Vedras (Tradicionais) ⁽¹⁾	Sesimbra	Média (Tradicionais)	
N (Polpa)	30,77 ± 0,81 ^a	29,23 ± 8,26 ^a	22,65 ± 1,07 ^a	22,37 ± 0,01 ^a	36,36 ± 5,69 ^a	29,49 ± 0,44	33,01 ± 0,27 ^a
N (Casca)	125,87 ± 4,03 ^b	81,37 ± 16,00 ^a	95,12 ± 21,09 ^{ab}	75,43 ± 3,83 ^a	95,47 ± 9,75 ^{ab}	91,22 ± 2,17	98,73 ± 1,31 ^{ab}
N (Fruto Inteiro)	40,53 ± 1,15 ^a	34,77 ± 6,62 ^a	28,86 ± 0,41 ^a	28,42 ± 0,42 ^a	42,65 ± 4,75 ^a	35,79 ± 0,41	39,51 ± 0,28 ^a
P (Polpa)	15,50 ± 0,01 ^c	8,73 ± 2,15 ^{ab}	7,06 ± 1,03 ^a	14,01 ± 0,13 ^{bc}	11,56 ± 4,08 ^{abc}	10,39 ± 0,07	12,93 ± 0,08 ^{abc}
P (Casca)	22,11 ± 0,01 ^a	21,39 ± 4,78 ^a	26,70 ± 3,87 ^a	25,30 ± 0,31 ^a	18,15 ± 2,06 ^a	21,90 ± 0,17	20,04 ± 0,11 ^a
P (Fruto Inteiro)	16,17 ± 0,01 ^b	10,08 ± 1,96 ^a	9,50 ± 0,10 ^a	15,30 ± 0,15 ^b	12,31 ± 3,71 ^{ab}	11,61 ± 0,07	13,65 ± 0,07 ^{ab}
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).							
(1) <i>Bravo de Esmolfe</i> . (2) <i>Starking</i> , <i>Jonagold</i> , <i>Golden Delicious</i> , <i>Fuji</i> e <i>Royal Gala</i> .							

2.3.6. Fósforo

O teor de fósforo mostrou variar entre as diversas variedades, em alguns casos de forma significativa. Os valores apurados ficaram compreendidos entre $6,71 \pm 0,00$ (*Maçã Cunha*) e $16,29 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Fuji*) na polpa, entre $13,88 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Pipo de Basto*) e $30,05 \pm 0,35$ mg/100 g PF (*Casa Nova de Alcobaça*) na casca, e entre $7,88 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $16,55 \pm 0,03$ mg/100 g PF (*Fuji*) no fruto inteiro (polpa + casca) (Figura 2.2 e Tabela 2.15).

São poucos os estudos que comparam o teor de fósforo nas diversas frações do fruto, no entanto os valores aqui apresentados parecem estar em acordo com os dados recolhidos de algumas tabelas de composição de alimentos (INSA, 2006; USDA, 2011; APRIFEL, 2010; Schmidt-Hebbel *et al.*, 1992), exceto no caso das variedades *Querina*, *Jonagold*, *Bravo de Esmolfe*, *Camoesa da Azoia*, *Reineta Parda*, *Porta da Loja* e *Fuji* que apresentaram uma concentração de fósforo mais elevada do que o reportado. O trabalho de Henríquez e colaboradores compara exatamente as frações casca, polpa e fruto inteiro de 5 variedades diferentes (*Fuji*, *Granny Smith*, *Pink Lady*, *Red Delicious* e *Royal Gala*), e apresenta concentrações de fósforo compreendidas entre $4,6 \pm 0,8$ mg/100 g PF e $8,9 \pm 0,8$ mg/100 g PF para a polpa, entre $8,3 \pm 2,1$ mg/100 g PF e $20,5 \pm 1,0$ mg/100 g PF para a casca, e entre $4,7 \pm 0,3$ mg/100 g PF e $8,7 \pm 0,8$ mg/100 g PF para o fruto inteiro (Henríquez *et al.*, 2010a). Estes valores, apesar de cruzarem a amplitude de valores do trabalho aqui apresentado, mostram ser um pouco inferiores. Os resultados obtidos para o teor de fósforo da variedade *Bravo de Esmolfe* ($14,01 \pm 0,13$ mg/100 g PF e $15,30 \pm 0,15$ mg/100 g PF, para a polpa e fruto inteiro, respetivamente), foram também superiores aos obtidos por Feliciano e colaboradores para o conteúdo de fósforo da fração polpa ($5,2$ mg/100 g PF) e do fruto inteiro ($9,1 \pm 1,0$ mg/100 g PF), da mesma variedade de maçã (Feliciano *et al.*, 2010). Um outro estudo analisa igualmente as frações polpa e casca mas, uma vez que expressa os valores em peso seco, a comparação de dados torna-se difícil (Ekholm *et al.*, 2007). Não são conhecidos outros estudos que reportem o teor de fósforo tendo em consideração a separação entre as frações polpa e casca.

O trabalho aqui apresentado mostra que algumas variedades possuem um teor de fósforo superior ao reportado por estudos anteriores, para polpa e fruto inteiro. No entanto não foi possível fazer comparações com a casca, dado que não foram encontrados estudos que a tivessem analisado separadamente.

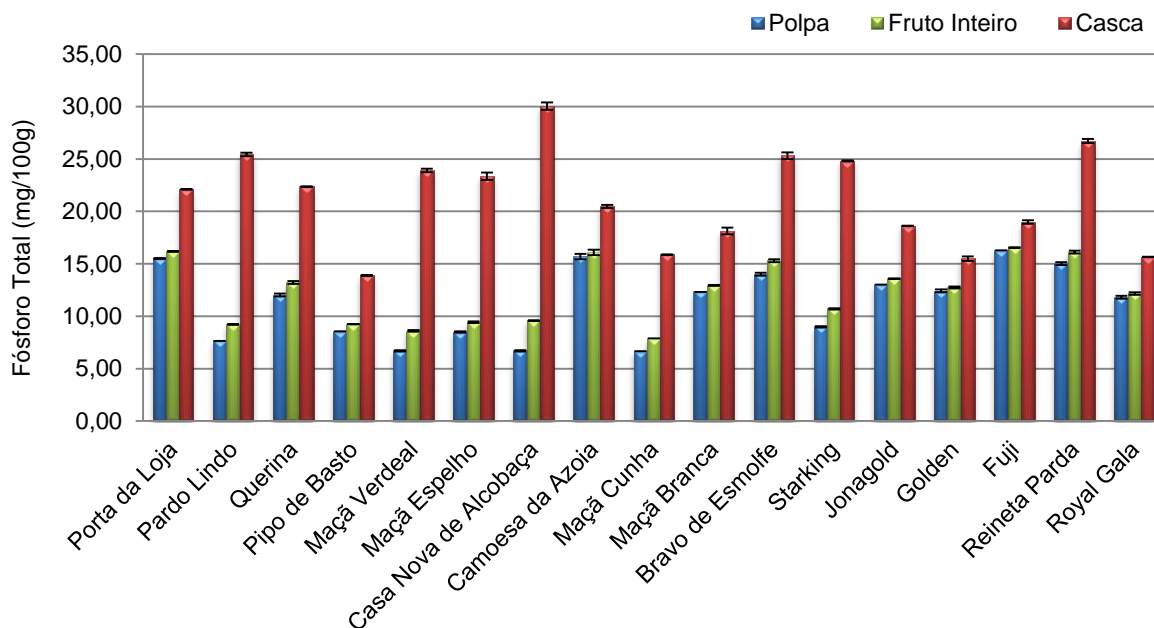


Figura 2.2. Fósforo total em polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de Portugal.

As variedades exóticas evidenciaram teores médios de fósforo ligeiramente superiores ao das variedades tradicionais, na polpa, na casca e no fruto inteiro. Contudo, as diferenças não revelaram significância estatística ($p > 0,05$). Outro dado a salientar é o facto do fósforo se encontrar em maior quantidade na casca. Os dados apurados demonstram que esta fração possui um teor de fósforo entre 1,2 (*Fuji* e *Golden Delicious*) e 4,5 (*Casa Nova de Alcobaça*) vezes superior ao observado na polpa (Tabela 2.15).

Tabela 2.15. Teor de fósforo de 17 variedades de maçãs de Portugal.

mg/100 g de peso fresco					Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
Variedades	Polpa	Casca	Fruto (polpa+casca)		
TRADICIONAIS	Porta da Loja	15,50 ± 0,01 ^j	22,11 ± 0,01 ^f	16,17 ± 0,01 ^{jk}	1,4
	Pardo Lindo	7,65 ± 0,01 ^b	25,44 ± 0,16 ^h	9,23 ± 0,01 ^c	3,3
	Querina	12,03 ± 0,15 ^{ef}	22,35 ± 0,03 ^f	13,22 ± 0,13 ^{gh}	1,9
	Pipo de Basto	8,55 ± 0,00 ^c	13,88 ± 0,01^b	9,25 ± 0,00 ^c	1,6
	Maçã Verdeal	6,71 ± 0,06 ^a	23,91 ± 0,17 ^g	8,62 ± 0,08 ^b	3,6
	Maçã Espelho	8,49 ± 0,7 ^c	23,36 ± 0,33 ^g	9,43 ± 0,08 ^c	2,8
	Casa Nova de Alcobça	6,71 ± 0,06 ^a	30,05 ± 0,35^j	9,58 ± 0,01 ^c	4,5
	Camoesa da Azoia	15,70 ± 0,28 ^j	20,47 ± 0,16 ^e	16,10 ± 0,26 ^j	1,3
	Maçã Cunha	6,66 ± 0,00^a	15,88 ± 0,02 ^a	7,88 ± 0,00^a	2,4
	Maçã Branca	12,32 ± 0,01 ^f	18,12 ± 0,33 ^{bc}	12,94 ± 0,04 ^{fg}	1,5
	Bravo de Esmolfe	14,01 ± 0,13 ^h	25,30 ± 0,31 ^h	15,30 ± 0,15 ⁱ	1,8
	Média	10,39 ± 0,07	21,90 ± 0,17	11,61 ± 0,07	2,4
EXTÓTICAS	Starking	8,99 ± 0,07 ^d	24,82 ± 0,05 ^h	10,71 ± 0,06 ^d	2,8
	Jonagold	13,02 ± 0,01 ^g	18,61 ± 0,01 ^{cd}	13,58 ± 0,01 ^h	1,4
	Golden Delicious	12,42 ± 0,13 ^f	15,50 ± 0,21 ^b	12,74 ± 0,09 ^f	1,2
	Fuji	16,29 ± 0,01^k	18,98 ± 0,17 ^d	16,55 ± 0,03^k	1,2
	Reineta Parda	15,02 ± 0,13 ⁱ	26,70 ± 0,20 ⁱ	16,13 ± 0,13 ^j	1,8
	Royal Gala	11,83 ± 0,13 ^e	15,66 ± 0,01 ^b	12,18 ± 0,12 ^e	1,3
	Média	12,93 ± 0,08	20,04 ± 0,11	13,65 ± 0,07	1,6

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

Em termos estatísticos, observou-se que as maçãs *Fuji* e *Casa Nova de Alcobça* apresentaram teores de fósforo significativamente superiores (p < 0,05) a todas as restantes variedades, respetivamente para as frações polpa e casca. Considerando o fruto inteiro, a maçã *Fuji* apresentou semelhanças com a variedade *Porta da Loja*, mas diferenças substanciais com as demais variedades. Por outro lado o teor de fósforo das variedades *Maçã Cunha*, *Maçã Verdeal* e *Casa Nova de Alcobça* na polpa, *Pipo de Basto* na casca, e *Maçã Cunha* no fruto inteiro mostrou ser significativamente inferior (p < 0,05) ao das restantes variedades.

A maçã *Porta da Loja* (Minho) e a variedade *Bravo de Esmolfe* (Torres Vedras) evidenciaram teores de fósforo significativamente superiores (p < 0,05) aos das cultivares de Viseu e de Alcobça, e afinidades com as variedades exóticas de Torres Vedras e as cultivares de Sesimbra (Tabela 2.12). Por outro lado, os valores apurados mostraram que não existem diferenças estatisticamente relevantes (p > 0,05) na fração casca em relação a nenhum dos grupos geográficos definidos.

2.3.7. Açúcares redutores, açúcares totais e açúcares não redutores

As variedades estudadas apresentaram teores de açúcar diversos, com ligeira preponderância das variedades exóticas. Em termos globais o teor de açúcares totais oscilou entre $16,62 \pm 0,14$ g/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $27,36 \pm 0,15$ g/100 g PF (*Golden Delicious*) (Figura 2.3 e Tabela 2.16). O teor de açúcares redutores variou entre $7,40 \pm 0,25$ g/100 g PF (*Reineta Parda*) e $20,39 \pm 0,02$ g/100 g PF (*Jonagold*), e o de açúcares não redutores entre $2,83 \pm 0,23$ g/100 g PF (*Maçã Espelho*) e $12,61 \pm 0,0$ g/100 g PF (*Reineta Parda*). Comparando os dados mencionados com o teor de sacarose (açúcares não redutores), o somatório dos monoglicerídeos (açúcares redutores) e a concentração de açúcares totais apresentados por outros trabalhos (Petkovšek *et al.*, 2007; Feliciano *et al.*, 2010; Hecke *et al.*, 2006; Wosiacki *et al.*, 2004), constata-se que estes são comparáveis.

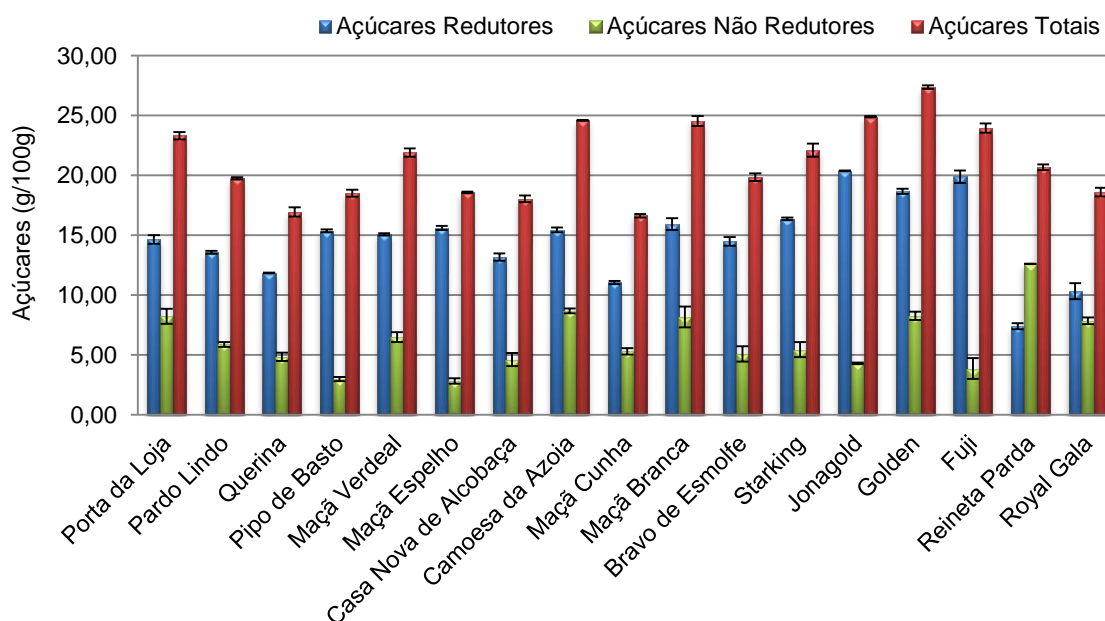


Figura 2.3. Teor de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Apesar do teor de açúcares apurado parecer relativamente equilibrado entre as diversas maçãs, foram encontradas diferenças estatisticamente relevantes ($p < 0,05$) entre muitas delas (Tabela 2.16). Se por um lado o teor de açúcares redutores da *Reineta Parda* mostrou ser significativamente mais baixo do que em todas as restantes variedades, o teor de açúcares não redutores desta cultivar evidenciou precisamente o contrário. No que concerne aos açúcares totais a *Golden Delicious* demonstrou possuir, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), o teor mais elevado de todas as maçãs analisadas e a *Maçã Cunha* o teor mais baixo, que apesar de também se mostrar substancialmente diferenciado dos valores obtidos pelas

restantes variedades, mostrou semelhanças com a variedade *Querina*, para a qual a diferença registada não se revelou significativa.

Os açúcares não redutores podem incluir grupos de compostos como os oligossacáridos ou os polissacáridos que contribuem para o teor da maçã em fibra solúvel, cujos efeitos benéficos para o bom funcionamento do sistema gastrointestinal são conhecidos. Deste ponto de vista, a variedade Reineta Parda destaca-se entre as exóticas e a variedade Camoesa da Azóia entre as tradicionais, como maçãs particularmente ricas em açúcares complexos.

Tabela 2.16. Teor de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais de 17 variedades de maçãs de Portugal.

g/100 g de peso fresco				
	Variedades	Açúcares Redutores	Açúcares Não Redutores	Açúcares Totais
TRADICIONAIS	Porta da Loja	14,64 ± 0,35 ^{ef}	8,24 ± 0,63 ^{fg}	23,31 ± 0,31 ^g
	Pardo Lindo	13,58 ± 0,12 ^{de}	5,87 ± 0,20 ^{de}	19,76 ± 0,09 ^{de}
	Querina	11,85 ± 0,02 ^c	4,84 ± 0,35 ^{bcde}	16,95 ± 0,39 ^{ab}
	Pipo de Basto	15,38 ± 0,12 ^{fgh}	2,98 ± 0,17 ^{ab}	18,51 ± 0,30 ^c
	Maçã Verdeal	15,07 ± 0,09 ^{fg}	6,49 ± 0,41 ^{ef}	21,90 ± 0,35 ^f
	Maçã Espelho	15,60 ± 0,17 ^{fgh}	2,83 ± 0,23^a	18,57 ± 0,07 ^{cd}
	Casa Nova de Alcobça	13,18 ± 0,31 ^d	4,61 ± 0,55 ^{abcde}	18,04 ± 0,27 ^{bc}
	Camoesa da Azoia	15,45 ± 0,20 ^{fgh}	8,68 ± 0,21 ^g	24,59 ± 0,02 ^h
	Maçã Cunha	11,04 ± 0,14 ^{bc}	5,30 ± 0,27 ^{cde}	16,62 ± 0,14^a
	Maçã Branca	15,93 ± 0,50 ^{fgh}	8,17 ± 0,86 ^{fg}	24,53 ± 0,41 ^h
	Bravo de Esmolfe	14,49 ± 0,36 ^{ef}	5,08 ± 0,65 ^{cde}	19,83 ± 0,32 ^e
	Média	14,20 ± 0,22	5,74 ± 0,41	20,24 ± 0,24
EXTÓTICAS	Starking	16,36 ± 0,11 ^h	5,44 ± 0,63 ^{cde}	22,09 ± 0,55 ^f
	Jonagold	20,39 ± 0,02^j	4,29 ± 0,07 ^{abcd}	24,90 ± 0,04 ^h
	Golden Delicious	18,67 ± 0,22 ⁱ	8,26 ± 0,35 ^{fg}	27,36 ± 0,15ⁱ
	Fuji	19,88 ± 0,53 ^{ij}	3,87 ± 0,87 ^{abc}	24,95 ± 0,39 ^{gh}
	Reineta Parda	7,40 ± 0,25^a	12,61 ± 0,00^h	20,67 ± 0,25 ^e
	Royal Gala	10,33 ± 0,67 ^b	7,86 ± 0,29 ^{fg}	18,59 ± 0,37 ^{cd}
	Média	15,50 ± 0,30	7,05 ± 0,37	22,93 ± 0,29
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).				

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (p > 0,05) na comparação efetuada com base na proveniência geográfica das diversas amostras.

2.3.8. Acidez titulável

Inúmeros trabalhos têm indicado que o teor de acidez titulável pode variar consideravelmente entre diversas variedades de maçãs, como seria de esperar, tendo em consideração a sua diversidade organolética. O trabalho aqui apresentado mostrou existirem diferenças significativas ($p < 0,05$) no teor de acidez das cultivares analisadas. Os valores apurados ficaram compreendidos entre $0,27 \pm 0,0$ g/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) e $1,20 \pm 0,0$ g/100 g PF (*Reineta Parda*) (Tabela 2.17), em acordo com resultados apresentados anteriormente (Feliciano *et al.*, 2010; Leccese *et al.*, 2009; Hecke *et al.*, 2006; Podsędek *et al.*, 2000; Hoehn *et al.*, 2003).

Tabela 2.17. Teor de acidez titulável de 17 variedades de maçãs e classificação quanto ao seu grau de acidez.

	Variedades	Acidez Titulável (g/100 g PF)	Classificação, segundo Guiné <i>et al.</i> (2008)
TRADICIONAIS	Porta da Loja	$0,60 \pm 0,00^k$	Acidez Intermédia
	Pardo Lindo	$0,33 \pm 0,00^c$	Pouco Ácida
	Querina	$0,42 \pm 0,00^d$	Acidez Intermédia
	Pipo de Basto	$0,54 \pm 0,00^i$	Acidez Intermédia
	Maçã Verdeal	$0,53 \pm 0,00^g$	Acidez Intermédia
	Maçã Espelho	$0,67 \pm 0,00^l$	Acidez Intermédia
	Casa Nova de Alcobaça	$0,47 \pm 0,00^e$	Acidez Intermédia
	Camoesa da Azoia	$1,07 \pm 0,00^p$	Muito Ácida
	Maçã Cunha	$1,07 \pm 0,00^o$	Muito Ácida
	Maçã Branca	$1,00 \pm 0,00^n$	Muito Ácida
	Bravo de Esmolfe	$0,27 \pm 0,00^a$	Pouco Ácida
	Média	$0,63 \pm 0,00$	-
EXTÓTICAS	Starking	$0,33 \pm 0,00^b$	Pouco Ácida
	Jonagold	$0,74 \pm 0,00^m$	Acidez Intermédia
	Golden Delicious	$0,60 \pm 0,00^j$	Acidez Intermédia
	Fuji	$0,53 \pm 0,00^f$	Acidez Intermédia
	Reineta Parda	$1,20 \pm 0,00^q$	Muito Ácida
	Royal Gala	$0,54 \pm 0,00^h$	Acidez Intermédia
	Média	$0,66 \pm 0,00$	-

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tendo em consideração o critério de Guiné *et al.* (2008) (Tabela 2.17), as variedades *Camoesa da Azoia*, *Maçã Cunha*, *Maçã Branca* (todas com origem em Sesimbra) e *Reineta Parda* podem ser classificadas como “Muito Ácidas”, as cultivares *Pardo Lindo*, *Bravo de Esmolfe* e *Starking* como “Pouco Ácidas” e as restantes como detentoras de “Acidez Intermédia”. Desta análise sobressai um dado interessante. Apesar de todas as variedades de Sesimbra terem revelado teores de acidez elevados e serem consideradas, por este motivo, como “Muito Ácidas”, as

variedades *Camoesa da Azoia* e *Maçã Branca* possuem igualmente uma elevada concentração de açúcares, o que lhes confere um sabor mais aceitável pelo consumidor, pois contrabalança com o elevado teor de acidez. Neste sentido, a relação açúcares/ácidos parece ser, de facto, o melhor instrumento para prever as propriedades organolépticas das maçãs, tal como apontado por Petkovšek *et al.* (2007).

As variedades exóticas mostram ser em média ligeiramente mais ácidas que as tradicionais, mas para este resultado contribuiu fortemente o teor de acidez da variedade *Reineta Parda*, que mostrou ser superior ao de todas as restantes cultivares exóticas e, também ao de todas as maçãs tradicionais. Constatou-se ainda que, quando considerada a proveniência geográfica, as variedades da região de Sesimbra demonstraram possuir um teor de acidez titulável significativamente superior ($p < 0,05$) à média das restantes origens (Tabela 2.18). Isolando a variedade *Reineta Parda* do grupo geográfico de Torres Vedras, verificou-se que o seu teor de acidez se aproxima estatisticamente das variedades provenientes de Sesimbra e a distancia significativamente de todas as restantes proveniências.

Tabela 2.18. Teor de acidez titulável segundo a proveniência geográfica das maçãs.

a)	Origem Geográfica (sem exclusões)	Acidez Titulável (g/100 g PF)	b)	Origem Geográfica (excluindo a ReP)	Acidez Titulável (g/100 g PF)
	Minho	0,60 ^a		Minho	0.60 ^a
	Viseu	0,46 ^a		Viseu	0.46 ^a
	Alcobaça	0,57 ^a		Alcobaça	0.57 ^a
	Torres Vedras	0,60 ^a		Torres Vedras	0.50 ^a
	Sesimbra	1,05 ^b		Reineta Parda	1.20 ^b
				Sesimbra	1.05 ^b

a) Grupos segundo origem geográfica (sem alterações no número de exemplares).

b) Grupo Torres Vedras alterado: removida a variedade *Reineta Parda*. Variedades remanescentes do grupo: *Bravo de Esmolfe*, *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Royal Gala*.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

2.3.9. Rácio açúcares/acidez

O rácio açúcares/acidez, tal como abordado no início deste capítulo, pode ser usado para prever o grau de doçura dos frutos. Segundo a combinação das classificações sugeridas por Lea *et al.* (1995) e por Jayasena & Cameron (2008), as maçãs analisadas poderão ser classificadas com ácidas, doces ou muito doces.

Apesar da diversidade dos dados obtidos, não foram observadas diferenças significativas em relação a todas as variedades. De facto, se por um lado as variedades *Maçã Espelho*, *Pardo Lindo*, *Starking* e *Bravo de Esmolfe* demonstraram ser substancialmente diferentes ($p < 0,05$), entre si e em relação a todas as restantes cultivares, por outro foi possível apurar semelhanças

entre outras maçãs estudadas, nomeadamente entre a *Maçã Cunha* ($15,60 \pm 0,13$) e a *Reineta Parda* ($17,18 \pm 0,21$), que evidenciaram um rácio açúcar/acidez significativamente inferior ao das restantes variedades (Tabela 2.19). No extremo oposto a variedade *Bravo de Esmolfe* mostrou um rácio significativamente superior ($74,05 \pm 0,20$) às demais variedades, nomeadamente em relação à maçã *Starking*, que apresentou o segundo valor mais elevado ($66,01 \pm 0,16$). Estes dados estão de acordo com trabalhos anteriores (Vieira *et al.*, 2009; Leccese *et al.*, 2009; Petkovšek *et al.*, 2007; Nogueira *et al.*, 2006; Paganini *et al.*, 2004; Hoehn *et al.*, 2003), que reportam rácios açúcar/acidez compreendidos entre 12,31 e 70,65.

Tabela 2.19. Relação açúcares/acidez de 17 variedades de maçãs e classificação quanto ao seu grau de doçura/acidez.

	Variedades	Relação Açúcares/Acidez	Classificação, segundo Lea <i>et al.</i> (1995) e Jayasena & Cameron (2008)
TRADICIONAIS	Porta da Loja	$38,80 \pm 0,52^e$	Doce
	Pardo Lindo	$59,01 \pm 0,27^h$	Muito Doce
	Querina	$39,97 \pm 0,92^{ef}$	Doce
	Pipo de Basto	$34,57 \pm 0,56^d$	Doce
	Maçã Verdeal	$41,19 \pm 0,65^f$	Muito Doce
	Maçã Espelho	$27,75 \pm 0,11^c$	Doce
	Casa Nova de Alcobça	$38,44 \pm 0,58^e$	Doce
	Camoesa da Azoia	$22,95 \pm 0,01^b$	Doce
	Maçã Cunha	$15,60 \pm 0,13^a$	Ácida
	Maçã Branca	$24,47 \pm 0,41^b$	Doce
	Bravo de Esmolfe	$74,05 \pm 0,20^j$	Muito Doce
	Média	$37,89 \pm 0,42$	-
EXTÓTICAS	Starking	$66,01 \pm 0,16^i$	Muito Doce
	Jonagold	$33,85 \pm 0,06^d$	Doce
	Golden Delicious	$45,60 \pm 0,25^g$	Muito Doce
	Fuji	$45,05 \pm 0,73^g$	Muito Doce
	Reineta Parda	$17,18 \pm 0,21^a$	Ácida
	Royal Gala	$34,72 \pm 0,68^d$	Doce
	Média	$40,40 \pm 0,68$	-

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Com base no cálculo da razão açúcar/ácido, foi possível classificar, pela ordem apresentada, as variedades *Bravo de Esmolfe*, *Starking*, *Pardo Lindo*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Maçã Verdeal*, como “Muito Doces”; as cultivares *Querina*, *Porta da Loja*, *Casa Nova de Alcobça*, *Royal Gala*, *Pipo de Basto*, *Jonagold*, *Maçã Espelho*, *Maçã Branca* e *Camoesa da Azoia*, como “Doces”; e as maçãs *Reineta Parda* e *Maçã Cunha*, como “Ácidas”. Comparando com a classificação atribuída apenas com recurso ao teor de acidez titulável depreende-se que, por exemplo, as variedades *Bravo de Esmolfe*, *Starking* e *Pardo Lindo*, que evidenciaram uma acidez moderada – mas que revelaram possuir paralelamente um elevado teor de açúcares –, acabaram por ser

classificadas como variedades “Muito Doces”, após apurada a relação entre açúcares e ácidos. A classificação baseada no rácio açúcar/ácido é, como já referido anteriormente, o instrumento mais eficiente de previsão dos atributos sensoriais dos frutos, do que o teor de açúcares ou o teor de acidez isoladamente (Jayasena & Cameron, 2008).

Comparando as diversas variedades tradicionais, a maçã *Bravo de Esmolfe* foi aquela que evidenciou maior grau de doçura ($74,05 \pm 0,20$) e a *Maçã Cunha* a que demonstrou ser mais ácida ($15,60 \pm 0,13$). Por parte das variedades exóticas, a *Reineta Parda* apresentou-se como a cultivar de sabor mais ácido ($17,18 \pm 0,21$) e a variedade *Starking* como a mais doce ($66,01 \pm 0,16$). Confrontando a média das variedades tradicionais ($37,89 \pm 0,42$) com a média das exóticas ($40,40 \pm 0,68$), verificou-se que as variedades exóticas possuem uma relação açúcar/ácido ligeiramente superior ao das tradicionais, valor que poderia ser mais elevado ($45,05 \pm 0,38$) se a *Reineta Parda* fosse removida do grupo a que pertence.

Ao agrupar as variedades de acordo com a sua proveniência geográfica, constatou-se que não existem diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os diversos grupos (Tabela 2.20a)). Contudo, tendo em conta que de entre as variedades colhidas na região de Torres Vedras existem duas variedades que apresentam grandes diferenças em relação às restantes integrantes do grupo, designadamente as cultivares *Reineta Parda* e *Bravo de Esmolfe*, decidiu-se separá-las do respetivo conjunto (Tabela 2.20b) e c)), no sentido de apurar possíveis afinidades destas para com outros agrupamentos geográficos. Ao fazê-lo, verificou-se que a cultivar *Bravo de Esmolfe* revelou diferenças muito grandes ($p < 0,05$) em relação a todos os grupos geográficos, incluindo ao grupo de Torres Vedras, dado que apresentou uma relação açúcar/ácido muito elevada e estatisticamente diferente da média obtida pelos restantes exemplares do conjunto. Quanto à variedade *Reineta Parda* revelou diferenças significativas em comparação com os agrupamentos geográficos de Viseu e de Torres Vedras, demonstrando um valor substancialmente mais baixo ($p < 0,05$), e afinidades com significância estatística em relação às restantes proveniências (Tabela 2.20a)). Em termos gerais, as variedades provenientes da região de Torres Vedras evidenciaram ser mais doces do que a média das variedades das restantes localizações.

Tabela 2.20. Relação açúcares/acidez segundo a proveniência geográfica das maçãs.

a)	Origem Geográfica (sem exclusões)	Relação Açúcares/Acidez
	Minho	38,80 ^a
	Viseu	43,68 ^a
	Alcobaça	33,01 ^a
	Torres Vedras	45,21^a
	Sesimbra	21,01^a
b)	Origem Geográfica (com exclusões)	Relação Açúcares/Acidez
	Minho	38,80 ^{abc}
	Viseu	43,68 ^{bc}
	Alcobaça	33,01 ^{abc}
	Torres Vedras	49,88^c
	Reineta Parda	17,18^a
	Sesimbra	21,01 ^{abc}
c)	Origem Geográfica (com exclusões)	Relação Açúcares/Acidez
	Minho	38,80 ^{ab}
	Viseu	43,68 ^b
	Alcobaça	33,01 ^{ab}
	Torres Vedras	45,05^b
	Reineta Parda	17,18^a
	Bravo de Esmolfe	74,05 ^c
	Sesimbra	21,01 ^a

a) Grupos segundo origem geográfica (sem alterações no número de exemplares).

b) Grupo Torres Vedras alterado: removida a variedade *Reineta Parda*. Variedades re-manescentes do grupo: *Bravo de Esmolfe*, *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Royal Gala*.

c) Grupo Torres Vedras alterado: removidas as variedades *Reineta Parda* e *Bravo de Esmolfe*. Variedades remanescentes do grupo: *Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Royal Gala*.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

2.3.10. Fibra total

O teor de fibras mostrou ser maior na casca do que na polpa, o que seria de esperar pela textura destes dois componentes da maçã. Esta consideração está de acordo com a literatura, nomeadamente com o trabalho de Gorinstein *et al.* (2002), que compara as frações polpa e casca. De facto, a casca evidenciou um teor de fibras entre 2,1 (*Pardo Lindo*) e 8,2 (*Fuji*) vezes mais elevado do que a polpa. Nesta última fração, os valores observados situaram-se entre $1,09 \pm 0,16$ g/100 g PF (*Golden Delicious*) e $1,80 \pm 0,02$ g/100 g PF (*Maçã Verdeal*), tendo sido possível observar variações com significância estatística entre algumas das variedades estudadas (Figura 2.4 e Tabela 2.21). No que concerne ao fruto inteiro (polpa + casca) os valores apurados ficaram compreendidos entre $1,56 \pm 0,01$ g/100 g PF (*Jonagold*) e $2,61 \pm 0,04$ g/100 g PF (*Maçã Verdeal*) e constatou-se que as variedades *Bravo de Esmolfe* e *Maçã Verdeal* evidenciaram um teor de fibras substancialmente superior ($p < 0,05$) a todas as restantes variedades. Contudo, as diferenças mais relevantes ocorreram na casca, onde se salienta o teor de fibras demonstrado pela variedade *Fuji* que mostrou ser significativamente superior ($p < 0,05$) ($10,67 \pm 0,09$ g/100 g PF) a todas as variedades envolvidas no estudo, sobretudo à variedade *Pardo Lindo*, que registou o valor mais baixo ($3,67 \pm 0,13$ g/100 g PF).

Estes valores estão em linha com outros trabalhos apresentados anteriormente (Sivakumaran *et al.*, 2013; Feliciano *et al.*, 2010; DANE, 2011 ; INSA, 2006; McCance & Widdowson, 2002; Gheyas *et al.*, 1997) e demonstram a importância do consumo da casca.

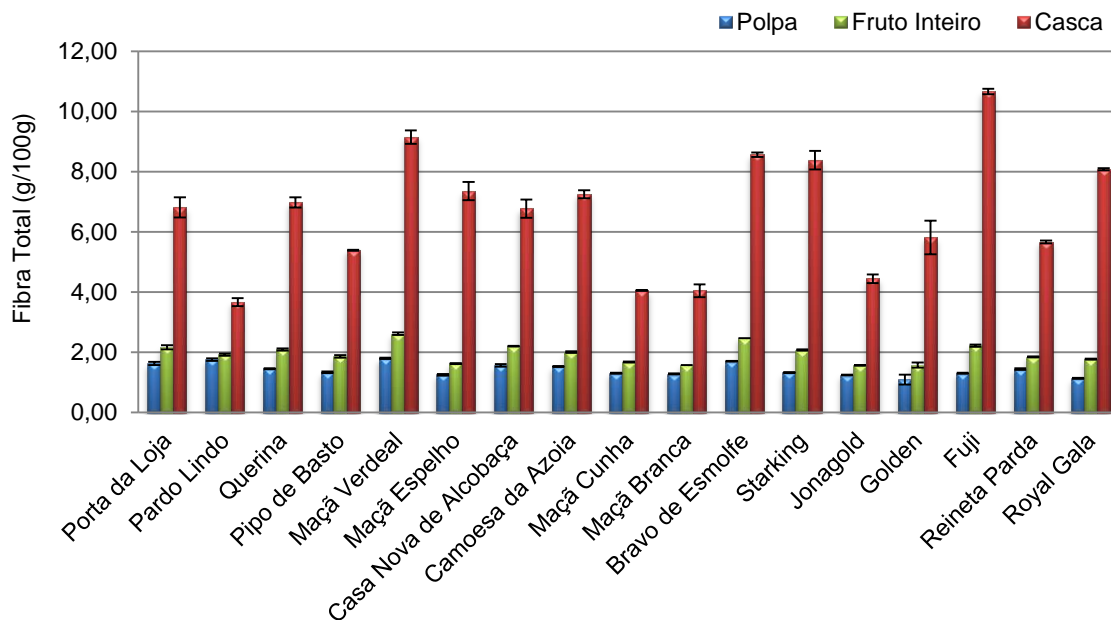


Figura 2.4. Teor de fibra de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Tabela 2.21. Teor de fibra de 17 variedades de maçãs de Portugal.

g/100 g de peso fresco					Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
Variedades	Polpa	Casca	Fruto (polpa+casca)		
TRADICIONAIS	Porta da Loja	1,63 ± 0,05 ^{fg} _{hi}	6,82 ± 0,33 ^c	2,16 ± 0,07 ^f	4,2
	Pardo Lindo	1,75 ± 0,04 ^{hi}	3,67 ± 0,13 ^a	1,92 ± 0,04 ^{cd}	2,1
	Querina	1,45 ± 0,04 ^{def}	6,98 ± 0,17 ^c	2,09 ± 0,04 ^{ef}	4,8
	Pipo de Basto	1,33 ± 0,03 ^{cde}	5,39 ± 0,01 ^b	1,86 ± 0,04 ^{cd}	4,0
	Maçã Verdeal	1,80 ± 0,02 ⁱ	9,15 ± 0,23 ^f	2,61 ± 0,04 ^h	5,1
	Maçã Espelho	1,25 ± 0,03 ^{abcd}	7,36 ± 0,30 ^{cd}	1,62 ± 0,01 ^a	5,9
	Casa Nova de Alcobaça	1,56 ± 0,04 ^{fg} _h	6,78 ± 0,30 ^c	2,20 ± 0,01 ^f	4,3
	Camoesa da Azoia	1,52 ± 0,01 ^{efg}	7,26 ± 0,13 ^{cd}	2,00 ± 0,03 ^{de}	4,8
	Maçã Cunha	1,30 ± 0,01 ^{bcd}	4,05 ± 0,01 ^a	1,67 ± 0,01 ^{ab}	3,1
	Maçã Branca	1,28 ± 0,01 ^{abcd}	4,04 ± 0,21 ^a	1,57 ± 0,00 ^a	3,2
	Bravo de Esmolfe	1,70 ± 0,01 ^{ghi}	8,57 ± 0,08 ^{ef}	2,47 ± 0,00 ^h	5,1
	Média	1,51 ± 0,03	6,37 ± 0,17	2,01 ± 0,03	4,2
EXTÓTICAS	Starking	1,32 ± 0,01 ^{bcd}	8,39 ± 0,3 ^{ef}	2,08 ± 0,02 ^{ef}	6,4
	Jonagold	1,24 ± 0,01 ^{abc}	4,44 ± 0,14 ^a	1,56 ± 0,01 ^a	3,6
	Golden Delicious	1,09 ± 0,16 ^a	5,82 ± 0,56 ^b	1,57 ± 0,08 ^a	5,4
	Fuji	1,30 ± 0,01 ^{bcd}	10,67 ± 0,09 ^g	2,22 ± 0,04 ^f	8,2
	Reineta Parda	1,44 ± 0,03 ^{def}	5,67 ± 0,05 ^b	1,84 ± 0,01 ^c	3,9
	Royal Gala	1,13 ± 0,01 ^{ab}	8,09 ± 0,04 ^{de}	1,77 ± 0,01 ^{bc}	7,2
	Média	1,25 ± 0,05	7,17 ± 0,19	1,85 ± 0,07	5,8

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A casca das variedades exóticas mostrou ser em média mais rica em fibras do que a das variedades tradicionais, sobretudo devido ao teor evidenciado pela maçã *Fuji* ($10,67 \pm 0,09$ g/100 g PF) – cujo teor de fibras mostrou ser significativamente mais elevado ($p < 0,05$) do que as restantes variedades envolvidas no estudo –, mas também pela *Starking* ($8,39 \pm 0,3$ g/100 g PF) e pela *Royal Gala* ($8,09 \pm 0,04$ g/100 g PF).

Na polpa e no fruto inteiro, foram as variedades tradicionais que mostraram teores de fibras mais elevados – com a *Maçã Verdeal* a mostrar uma concentração de fibras substancialmente mais elevadas do que as restantes variedades, quer na polpa ($1,80 \pm 0,02$ g/100 g PF), quer no fruto inteiro ($2,61 \pm 0,04$ g/100 g PF) –, o que está em acordo com os dados apresentados por Feliciano *et al.* (2010).

A origem geográfica parece influenciar de forma muito limitada o teor de fibras em maçãs. Apenas as variedades de Viseu mostraram ser significativamente diferentes ($p < 0,05$), evidenciando um teor de fibras superior, e apenas na comparação da fração polpa e em relação às maçãs provenientes de Torres Vedras. Não foram observadas diferenças com expressão estatística no caso da fração casca e no fruto inteiro.

2.4. CONCLUSÕES

A maçã possui propriedades nutricionais que a distinguem de outros frutos e lhe conferem um conjunto de características, nomeadamente sensoriais, que a tornam no fruto preferido dos portugueses e um dos mais apreciados no mundo inteiro.

Os dados aqui apresentados mostram que a água é o principal constituinte (78,9 a 84,6%) e que cerca de 94% da sua massa é comestível. O perfil mineral é composto sobretudo por potássio, magnésio, cálcio e sódio, mas também por outros elementos em menor quantidade, como por exemplo o ferro, o alumínio, o manganês, o zinco, o níquel e o molibdénio. As variedades exóticas evidenciaram valores mais elevados de K (124,41 g), Mg (5,97 g), Ca (3,53 g), Na (2,95 g), Fe (0,28 g), Al (0,42 g) e Mn (40,64 µg), enquanto as variedades tradicionais mostraram ser mais ricas em Zn (67,59 µg), Ni (6,99 µg) e Mo (3,61 µg) (valores por 100 g PF). Em termos individuais, importa ressaltar o elevado teor dos compostos descritos de seguida, registado pelas cultivares indicadas (valores por 100 g PF): K (151,10 g: *Golden Delicious*); Mg (6,63 g: *Golden Delicious*), Ca (4,23 g: *Starking*), Na (3,50 g: *Jonagold*), Fe (0,37 g: *Fuji*), Al (0,72 g: *Starking*), Mn (51,43 µg: *Maçã Verdeal*), Zn (89,40 µg: *Jonagold*), Ni (14,17 µg: *Querina*) e Mo (7,65 µg: *Bravo de Esmolfe*).

Constatou-se ainda que a maçã possui baixos teores de fósforo e de azoto, sobretudo na polpa. Os dados apurados revelam que, no que concerne ao fruto inteiro (polpa + casca), as maçãs analisadas mostraram possuir em média $12,33 \pm 2,96$ g/100 g PF de fósforo e $37,10 \pm 7,67$ g/100 g PF de azoto, o que demonstra estar abaixo dos valores evidenciados por outros frutos, nomeadamente banana, uva, ameixa, figo, kiwi, morango, pêsego e laranja (INSA, 2006). A concentração de fósforo e de azoto na casca mostrou ser até 4,5 e 4,8 vezes superior aos correspondentes teores na polpa, com os valores mais elevados a serem registados pela *Casa Nova de Alcobça* ($30,05 \pm 0,35$ g/100 g PF), para o fósforo, e pela *Reineta Parda* ($137,07 \pm 0,11$ g/100 g PF), para o azoto. No que concerne ao teor de fibra, a diferença entre casca e polpa foi ainda maior, com os teores da casca a atingirem valores 8,2 vezes mais elevados que os da polpa. O valor mais elevado na casca foi obtido pela *Fuji* ($10,67 \pm 0,09$ g/100 g PF), na polpa pela *Maçã Verdeal* ($1,80 \pm 0,02$ g/100 g PF) e no fruto inteiro pela *Maçã Verdeal* ($2,61 \pm 0,04$ g/100 g PF). Estes dados expõem a importância da ingestão do fruto com casca, no sentido de aumentar o aporte de fibras e, com isto, contribuir para a prevenção e tratamento de diversas doenças, que se sabem estar inversamente correlacionadas com a ingestão de fibras (Telrandhe *et al.*, 2012; Figuerola *et al.*, 2005; Gorinstein *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 1998).

Todavia, são os açúcares, e a sua relação com o teor de acidez, que caracterizam grande parte das características sensoriais que reconhecemos nas maçãs. O estudo aqui apresentado obteve valores médios de $14,66 \pm 3,30$ g/100 g PF, $6,20 \pm 2,49$ g/100 g PF e $21,19 \pm 3,14$

g/100 g PF, de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais, respetivamente, e revelou que, em média, as variedades exóticas apresentam valores mais elevados de açúcares, em comparação com as variedades tradicionais. Por outro lado, o teor médio de acidez titulável cifrou-se em $0,64 \pm 0,28$ g/100 g PF e o rácio médio de açúcares/ácidos em $38,78 \pm 15,82$, com valores compreendidos entre $15,60 \pm 0,13$ (*Maçã Cunha*), sabor ácido, e $74,05 \pm 0,20$ (*Bravo de Esmolfe*), muito doce.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A. & Dauvillier, P. (2000). Análisis nutricional de los alimentos. Tradução espanhola. Editorial Acirbia, S.A., Saragoça, Espanha.
2. Almeida, D. P. F., & Pintado, M. (2007). Caracterização nutritiva e funcional de variedades de maçã de Alcobaça. Relatório preparado para a Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça. Centro de Biotecnologia e Química Fina, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto.
3. AOAC (1990). Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Volume I, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA.
4. APN (Associação Portuguesa dos Nutricionistas). (2011). Artigo: Minerais. *In* <http://www.apn.org.pt/scid/webapn/defaultArticleViewOne.asp?articleID=390&categoryID=838>. Acedido a 05/11/2013.
5. APRIFEL (Agence Pour la Recherche et Information en Fruits e Légumes frais) (2010). Les Fiches Nutritionnelles par produits, Le Tableau de Composition Moyenne, *in* <http://www.aprifel.com/fiches.produits.php?p=45&c=3>.
6. Campeanu, G., Neata, G., & Darjanschi, G. (2009). Chemical composition of the fruits of several apple cultivars growth as biological crop. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2):161-164.
7. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
8. Chang, S-C., Lee, M-S., Lin, C-J., & Chen, M-L. (1998). Dietary fiber content and composition of fruits in Taiwan. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 7(3/4): 206-210.
9. Chinnici, F., Spinabelli, U., Riponi, C., & Amati, A. (2005). Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion-exclusion liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18:121-130, doi: 10.1016/j.fca.2001.01.005.
10. DANE - Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental FCF/USP (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos Brasileiros - Projecto Integrado de Composição de Alimentos (tbcausp 5.0), *in* <http://www.fcf.usp.br/tabela>.
11. Drake, S. R., & Eisele, T. A. (1999). Carbohydrate and acid contents of Gala apples and Bartlett pears from regular and controlled atmosphere storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47:3181-3184, doi: 10.1021/jf981228/x.

12. Drogoudi, P., Michailidis, Z., & Pantelidis, G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115:149-153, doi: 10.1016/j.scienta.2007.08.010.
13. Ekholm, P., Reinivuo, H., Mattila, P., Pakkala, H., Koponen, J., Happonen, A., Hellström, J., & Ovaskainen, M.L. (2007). Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland. *Journal of Food Compositional and Analysis*, 20:487-495, doi: 10.1016/j.jfca.2007.02.007.
14. FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). Food Balance Sheets: Food supply quantity (kg/capita/yr). FAOSTAT. *In* <http://faostat.fao.org/site/368/DesktopDefault.aspx?PageID=368#ancor>.
15. Feliciano, R., Antunes C., Ramos, A., Serra, A., Figueira, M., Duarte, C., Carvalho, A., & Bronze, M. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods*, 2:35-45, doi: 10.1016/j.jff.2009.12.004.
16. Figuerola, F., Hurtado, M., Estévez, A., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91:395-401, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.04.036.
17. Füzfa, Z., Katona, Z., Kovács, E., & Molnár-Perl, I. (2004). Simultaneous identification and quantification of the sugar, sugar alcohol, and carboxylic acid contents of sour cherry, apple, and berry fruits, as their trimethylsilyl derivatives, by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:7444-7452.
18. Gheys, F., Blankenship, S.M., Young, E., & McFeeters, R. (1997). Dietary fibre content of thirteen apple cultivars. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 75:333-340.
19. Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Foltá, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S. & Martín-Belloso, O. (2001). Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49:952-957, doi: 10.1021/jf000947k.
20. Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Lojek, A., Číž, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y.-S., Caspi, A., Libman, I., & Trakhtenberg, S. (2002). Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10):1166-1170, doi: 10.1002/jsfa.1178.
21. Guiné, R., Correia, A. C., Jordão, A., & Ferreira, D. (2008). Avaliação Nutricional e Sensorial de Variedades Regionais de Pomóideas, em Modo de Produção Convencional e Biológico, *in* "Variedades Regionais e Agricultura Biológica. Desafios para Peras e Maças Portuguesas". Simões, O, Lopes, A. & Ferreira, Coimbra: J. Eds. pp. 134-147, ESAC/DRAPC.

22. Hagen, S.F., Borge, G.I., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., & Solhaug, K. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation Postharvest Biology and Technology, 45:1–10, doi:10.1016/j.postharvbio.2007.02.002.
23. Harker, F.R., Marsh, K.B., Young, H., Murray, S.H., Gunson, F.A., & Walker, S.B. (2002). Sensory interpretation of instrumental measurements 2: sweet and acid taste of apple fruit. Postharvest Biology and Technology 24:241–250.
24. He, Xiangjiu, & Liu, R. H. (2008). Phytochemicals of apple peels: isolation, structure, elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 56:9905-9910, doi: 10.1021/jf8015255.
25. Hecke, K., Herbinger, K., Veberic, R., Stefancic, M., Toplak, H., Stampar, F., Keppel, H., & Grill, D. (2006). Sugar-, acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. European Journal of Clinic Nutrition. 60(9):1136–1140, doi:10.1038/sj.ejcn.1602430.
26. Henríquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabez, L., Simpson R. & Speisky, H. (2010a). Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile. Chilean Jornal of Agricultural Research, 70(4):523-536.
27. Henríquez, C., Speisky, H., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Simpson, R., & Almonacid, S. (2010b). Development of an Ingredient Containing Apple Peel, as a Source of Polyphenols and Dietary Fiber, Journal of Food Science, 75(6):H172-H181, doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01700.x.
28. Hoehn, E., Gasser, F., Guggenbühl, B., & künsch. (2003). Efficacy of instrumental measurements for determination of minimum requirements of firmness, soluble solids, and acidity of several apple varieties in comparison to consumer expectations. Postharvest Biology and Technology, 27:27-37.
29. Iglesias, I. & Alegre, S. (2006). The effect of anti-hail nets on fruit protection, radiation, temperature, quality and profitability of ‘Mondial Gala’ apples. Journal of Applied Horticulture, 8(2):91-100.
30. INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge). (2006). Tabela da composição de alimentos (<http://www.insa.pt>). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, ISBN: 972-8643-19-5, 355 pp.
31. Jayasena, V., & Cameron, I. (2008). °Brix/Acid ratio as a predictor of consumer acceptability of crimson seedless table grapes. Journal of Food Quality, 31:736-750.
32. Katsilambros, N., Dimosthenopoulos, C., Kontogianni, M., Manglara, E., & Poulia, K.-A. (2010). Clinical nutricion in practice. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, United Kingdom, ISBN: 978-1-4051-8084-9, 222 pp.

33. Łata, B., Przeradzka, M., & Bińkowska, M. (2005a). Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:8970-8978, doi: 10.1021/jf051503x.
34. Łata, B. (2007a). Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:663-671, doi: 10.1021/jf062664j.
35. Łata, B., & Tomala, K. (2007b). Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds. Cultivar and Year Implication. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(26):10795–10802, doi: 10.1021/jf072035p.
36. Łata, B., Trampczynska, B., & Paczesna, J. (2009). Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121:176–181, doi: 10.1016/j.scienta.2009.01.038.
37. Lea, A.G.H. (1995). Cidermaking. In: Lea, A.G.H. & Piggott, J.R. (1995). *Fermented Beverage Production*. Springer Science+Business Media Dordrecht (Eds.), New York, EUA, pp. 66-96, ISBN 978-1-4757-5216-8.
38. Leccese, A., Bartolini, S. & Viti, R. (2009). Antioxidant properties of peel and flesh in 'GoldRush' and 'Fiorina' scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars, New Zealand *Journal of Crop and Horticultural Science*, 37(1):71-78, doi: 10.1080/0114067090951025.
39. Lotito, S.B., & Frei, B. (2004). Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 36(2): 201-202, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.10.005.
40. Mahan, L. K., & Escott-Stump, S. (2008). *Krause's food & nutrition therapy*. Saunders, Elsevier Inc., EUA, 12^a edition, ISBN: 978-0-8089-2378-7, 1377 pp.
41. Masoodi, F.A., Sharma, B., & Ghauhan, G.S. (2002). Use of apple pomace as a source of dietary fiber in cakes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57(2):121-128.
42. Mayer, A.-M. (1997). Historical changes in the mineral content of fruits and vegetables. *British Food Journal*, 99(6): 207 - 211t: doi.org/10.1108/00070709710181540.
43. McCance and Widdowson's. (2002). *The Composition of Foods*. Sixth summary edition. Food Standards Agency. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 0-85404-428-0, 554 pp.
44. Molnár-Perl, I. (2000). Role of chromatography in the analysis of sugars, carboxylic acids and amino acids in food. *Journal of Chromatography A*, 891:1-32.
45. Nogueira, A., Biscaia, I., Wiecheteck, F., Denardi, F., & Wosiacki, G. (2006). Avaliação físico-química e tecnológica do suco de sete cultivares de macieira. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 27(1):89-98.

46. Nogueira, A., Teixeira, S.H., Demiate, I.M., & Wosiacki, G. (2007). Influência do processamento no teor de minerais em sucos de maçãs. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 27(2): 787-792.
47. NP 1419 (1988). Frutos, produtos hortícolas e seus derivados - determinação dos açúcares totais, dos açúcares redutores e dos açúcares não redutores (sacarose). Técnica de Munson e Walker. Processo de referência; 2ª edição 1988; Instituto Português da Qualidade, 9p.
48. Oliveira, M. C., Sichiery, R., & Mozzer, R. V. (2008). A low-energy-dense diet adding fruit reduces weight and energy intake in women. *Appetite*, 51: 291–295, doi:10.1016/j.appet.2008.03.001.
49. Paganini, C., Nogueira, A., Denardi, F. & Wosiacki, G. (2004). Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (dados da safra 2001/2002). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 28(6):1336-1343.
50. Pandey, P, Kumar, R., Tamta, A., & Mishra, D.S. (2013). Influence of positions of bearing and methods of harvesting on the quality of fruits - a review. *HortFlora Research Spectrum*, 2(2):103-108, ISSN 2250-2823.
51. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114:37-44, doi: 10.1016/j.scienta.2007.05.004.
52. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič. (2009). Changes in the inner quality parameters of apple fruit from technological to edible maturity. *Acta agriculturae Slovenica*, 93(1):17–29, doi: 10.2478/v10014-009-003-3.
53. Podsędek, A., Wilska-Jeszka, J., Anders B., & Markowski, J. (2000). Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*, 2010:268-272.
54. Prosky, L. (1999). What is fiber? Current controversies. *Trends in Food Science & Technology* 10:271-275.
55. Ramulu, P., & Rao, P.U. (2003). Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(6):677–685, doi:10.1016/S0889-1575(03)00095-4.
56. Reyes-García, m., Gómez-Sánchez, I., Espinoza-Barrientos, C., Bravo-Rebatta, F. & Morón, L. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos, in <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>, 8ª edición, ISBN 978-9972-857-73-7, 70 pp.
57. Rupasinghe, H.V., Wang, L., Huber, G.M., & Pitts, N.L. (2008). Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chemistry*, 107(3):1217-1224, doi:10.1016/j.foodchem.2007.09.057.

58. Schmidt-Hebbel, H., Pennacchiotti, I. M., Masson, L. S., & Mella, M. A. (1992). Tabla de composición química de alimentos chilenos. Octava edición, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile in http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidt03/index.html.
59. Sivakumaran, S., Huffman, L., Gilmore & Z., Sivakumaran, S. (2013). New Zealand FoodFiles 2012 Manual, The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited, ISBN 978-0-9876680-1-1, 50 pp.
60. Sudha, M.L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104:686–692, doi:10.1016/j.foodchem.2006.12.016.
61. Suni, M., Nyman, M., Eriksson, N.-A., Björk, L., & Björk, I. (2000). Carbohydrate composition and content of organic acids in fresh and stored apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(10):1538-1544, doi: 10.1002/1097-0010(200008)80:10<1538::AID-JSFA678>3.0.CO;2-A.
62. Tahir, I. I. (2006). Control of pre- and postharvest factors to improve apple quality and storability. Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Landscape Planning, Horticulture and Agricultural Science. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-7084-6, 65 pp.
63. Telrandhe, U. B., Kurmi, R., Uplanchiwar, V., Mansoori, M. H., Raj, V. J., & Jain, K. (2012). Nutraceuticals – A phenomenal resource in modern medicine. *International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences*, 2(1):179–195.
64. Toothaker, L. (1993). Multiple Comparison Procedures, University of Oklahoma Health Sciences Center, Sage Publications, Inc. ISBN: 9780803941779, 96 pp.
65. USDA - U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2011). USDA - National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory Home Page, in <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.
66. Van der Sluis, A., Dekker, M., Skrede, G., & Jongen, W. (2002). Activity and concentration of polyphenolic antioxidant in apple juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:7211-7219, 10.1021/jf020115h.
67. Vandecasteele, C. & Block, C.B. (1993). Modern Methods for Trace Element Determination. John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido.
68. Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1687-1694, doi: 10.1002/jsfa.2113.

69. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Amboni, R., Denardi F., & Fett, R. (2009). Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 122:421-425, doi: 10.1016/j.scienta.2009.06.012.
70. Watanabe, F.S. & Olsen, S.R. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ extracts from the soil. *Soil Science Society of America Journal*. 29, 677-678.
71. Watts, S. & Halliwell, L. (1996). Appendix 3 – Detailed field and chemical methods for soil. In: Watts, S. and Halliwell, L. (Eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp.475-505.
72. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:6520-6530.
73. Wosiacki, G., Pholman, B. C., & Nogueira, A. (2004). Características de qualidade de cultivares de maçã: avaliação físico-química e sensorial de quinze cultivares. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 24(3)347-352.
74. Wu, J., Gao, H., Zhao, L., Liao, X., Chen, F., Wang, Z., & Hu, X. (2007). Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry*, 103:88-93, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.07.030.
75. Zhang, Y., Li, P., & Cheng, L. (2010). Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in 'Honeycrisp' apple flesh. *Food Chemistry*, 123:1013-1018, doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.053.



CAPÍTULO 3

Propriedades Funcionais

- Teor de fenólicos totais
- Carotenóides totais
- Atividade antioxidante (DPPH e FRAP)

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. Fenólicos totais

Os compostos fenólicos são, como foi já referido no Capítulo 1, compostos de grande relevância que participam na caracterização da cor, do sabor e do aroma de plantas e frutos (Cheynier, 2005; Spanos & Wrolstad, 1992; Khanizadeh *et al.*, 2007b, Imeh & Khokhar, 2002), para além de exercerem outras funções relacionadas com a proteção contra condições de *stress* oxidativo e de contribuírem para a defesa da planta relativamente a agressões diversas: agentes patogénicos, predadores e outras pragas, ausência de luz, carência de nutrientes, etc. (Łata *et al.*, 2009; Petkovšek *et al.*, 2007; Veberic *et al.*, 2005). Os fenólicos têm vindo a ser relacionados com a prevenção de inúmeras doenças, designadamente doenças cardiovasculares (Salgado *et al.*, 2008; Hung *et al.*, 2004; Boyer & Liu, 2004; Joshipura *et al.*, 2001), diversas formas de cancro (Gerhauser, 2008; Linseisen *et al.*, 2007; W.C.R.F./A.I.C.R., 2007; Knekt *et al.*, 2002; Feskanich *et al.*, 2000; Marchand *et al.*, 2000; Knekt *et al.*, 1997; Hertog *et al.*, 1994), asma e outras doenças pulmonares (Boyer & Liu, 2004; Knekt *et al.*, 2002), diabetes (Boyer & Liu, 2004; Knekt *et al.*, 2002), obesidade (Gerhauser, 2008; Boyer & Liu, 2004) e processos inflamatórios crónicos, como por exemplo a artrite reumatóide (Gerhauser, 2008; Cieślik *et al.*, 2006; Liu, 2003).

Vários estudos têm apontado a maçã como um dos frutos que apresenta maior teor de fenólicos (Boyer & Liu, 2004; Sun *et al.*, 2002), apesar de inferior a outros frutos, como por exemplo o arando (*cranberry* em inglês). Comparando com os frutos mais consumidos em Portugal (pera, pêssago, uva, laranja, banana, morango e limão) (INE, 2012), a maçã é aquele que apresenta mais fenólicos (Sun *et al.*, 2002) (Figura 3.1).

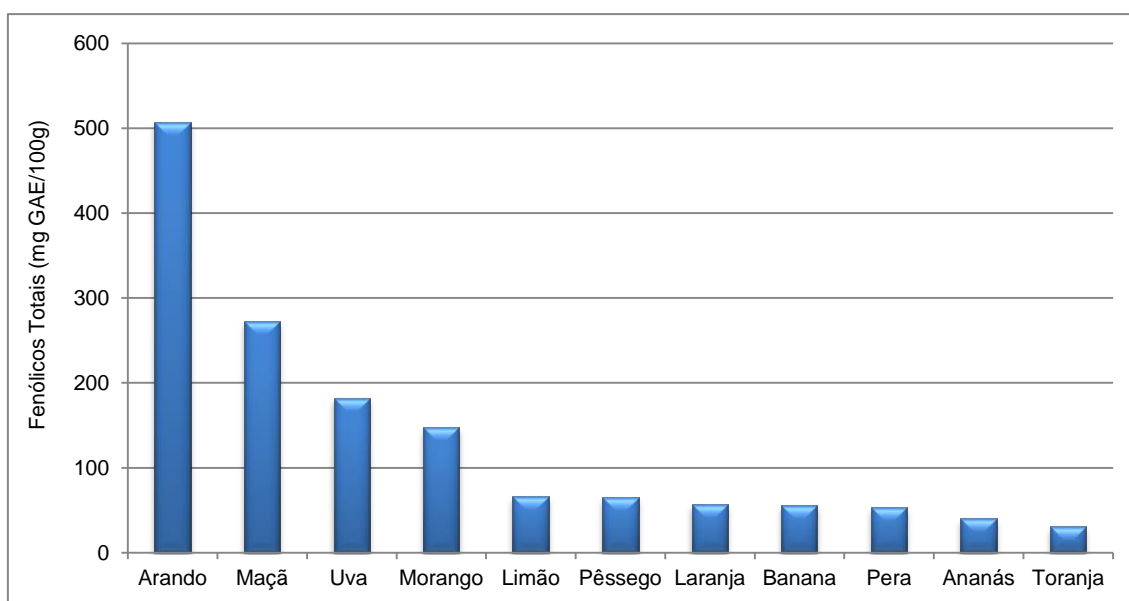


Figura 3.1. Concentração de fenólicos totais em 11 frutos (Folin-Ciocalteu) (Sun *et al.*, 2002).

O teor de fenólicos totais em maçãs tem sido recorrentemente determinado com recurso ao método de Folin-Ciocalteu (Wolfe *et al.*, 2003a; Drogoudi *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2002; Mari *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2011; Khanizadeh *et al.*, 2007b; Vrhovsek *et al.*, 2004; Mustafa *et al.*, 2010; D'Abrosca *et al.*, 2007), desenvolvido em 1927 por Otto Folin e Vintila Ciocalteu para a determinação de tirosina, e adaptado em 1965 por Vernon Singleton e Joseph Rossi para a avaliação dos fenólicos totais em vinho (Haminiuk *et al.*, 2012). Mais recentemente têm sido propostas diversas alterações ao método de Folin-Ciocalteu (Roura *et al.*, 2006), mas é ainda este o método mais utilizado para a determinação do teor de fenólicos totais. A sua longevidade deve-se porventura à fácil implementação, adaptação a um grande número de matrizes e ao facto do método produzir resultados muito rapidamente. A reação de Folin-Ciocalteu envolve a redução química de uma mistura de óxidos de tungsténio e de molibdénio, por compostos fenólicos em meio básico. A forma reduzida do reagente de Folin-Ciocalteu apresenta uma cor azul escura e um máximo de absorção a 765 nm. A intensidade da absorvância a este comprimento de onda é proporcional à concentração de molibdénio reduzido que por sua vez é proporcional à concentração de fenólicos ou de outros compostos com idêntico poder redutor presentes na amostra. Verifica-se, portanto, que a reação de Folin-Ciocalteu avalia a capacidade redutora total da amostra e não apenas o seu teor de fenólicos (Haminiuk *et al.*, 2012).

Vários estudos têm vindo a demonstrar que o teor de polifenóis varia consideravelmente entre diferentes espécies de frutos, mas também entre exemplares da mesma espécie e variedade, e até entre as várias porções do fruto, nomeadamente entre a polpa e a casca (Tabelas 3.1, 3.2 e 3.3). Apesar dos resultados disponíveis na literatura serem diversos, todos eles concluem que a casca da maçã evidencia um teor de polifenóis mais elevado do que a polpa, independentemente da variedade considerada (Vieira *et al.*, 2009; Łata *et al.*, 2009; Petkovšek *et al.*, 2007; Chinnici *et al.*, 2004b; Wolfe *et al.*, 2003a). Também parecem existir diferenças entre variedades de maçãs antigas e mais recentes, com as primeiras a demonstrarem teores de polifenóis mais elevados (Wojdyło *et al.*, 2008). Considerando as variedades exóticas e tradicionais de maçãs portuguesas têm sido apresentados teores médios de compostos fenólicos mais elevados para variedades tradicionais (121,0 mg GAE/100 g PF) do que para as variedades exóticas (98,7 mg GAE/100 g PF) (Feliciano *et al.*, 2010), mas também foram publicados estudos com resultados contrários: 101,2 mg GAE/100 g PF, nas variedades tradicionais e 108,0 mg GAE/100 g PF, nas variedades exóticas (Serra, 2010b). Estas diferenças devem-se provavelmente ao facto de os dois estudos não analisarem exatamente as mesmas variedades, o que indica que a variedade da maçã é um fator mais determinante para o teor de fenólicos do que a classificação de exótica ou tradicional. Van der Sluis e colaboradores mostraram adicionalmente que se encontram variações da ordem de 10% a 30% na concentração de compostos fenólicos em exemplares de uma mesma variedade de maçãs, sugerindo, portanto, que a determinação do teor de fenólicos numa determinada variedade de maçã deve ser realizada a partir de amostras compósitas produzidas por

combinação de pelo menos três ou quatro maçãs dessa variedade, para que a amostra seja representativa das diferenças existentes entre frutos individuais da mesma variedade (Van der Sluis *et al.*, 2001). As condições climáticas, que variam ao longo do ano e entre anos diferentes, também afetam a concentração de fenólicos de diferentes frutos. Łata & Tomala (2007b) demonstraram que o teor de fenólicos em algumas variedades de maçãs varia de forma significativa entre colheitas de 2 anos consecutivos. O teor de fenólicos é ainda influenciado pelo método de extração selecionado, nomeadamente pelos solventes usados (Hayouni *et al.*, 2007) (Tabelas 3.1, 3.2 e 3.3).

Tabela 3.1. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em polpa de maçãs (mg/100 g de peso fresco).

Referência Bibliográfica	Variedade	Teor de Fenólicos Totais (mg/100 g)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Pearson <i>et al.</i> (1999)	Diversas	43,0	80% Metanol	(a)	(a)
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	Diversas	27,9 - 65,3	Metanol/BHT (99/1)	30	765
Khanizadeh <i>et al.</i> (2008)	Diversas	19,4 - 47,9	70% Metanol	30	765
Vieira <i>et al.</i> (2011)	Diversas	128,3 - 212,0	80% Acetona	120	765
D'Abrosca <i>et al.</i> (2007)	Limoncella	31,7	80% Acetona	60	765
Carbone <i>et al.</i> (2011)	Diversas	79,0 ^(c)	70% Etanol	90	760
Wolfe <i>et al.</i> (2003a)	Diversas	75,7 - 103,2	80% Acetona	90	760
Eberhardt <i>et al.</i> (2000)	Red Delicious	219,8	80% Acetona	30	765
Almeida & Pintado (2007)	Casa Nova Alcobaça	108,9	Metanol/HCL ^(b)	(a)	750
Almeida & Pintado (2007)	Diversas Exóticas	56,0 – 144,0	Metanol/HCL ^(b)	(a)	750

(a) Dado não referido. (b) Proporção não indicada. (c) Valor médio.

Tabela 3.2. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em casca de maçãs (mg/100 g de peso fresco).

Referência Bibliográfica	Variedade	Teor de Fenólicos Totais (mg/100 g)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Pearson <i>et al.</i> (1999)	Diversas	184,5	80% Metanol	(a)	(a)
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	Diversas	10,9 – 208,2	Metanol/BHT (99/1)	30	765
Mari <i>et al.</i> (2010)	Diversas	70,4 – 146,0	80% Metanol	90	700
Khanizadeh <i>et al.</i> (2008)	Diversas	71,4 - 124,2	70% Metanol	30	765
Wolfe & Liu (2003b)	Rome Beauty	401,9	80% Acetona	90	760
Yuri <i>et al.</i> (2009)	Diversas	390,0 – 790,0	80% Etanol	15	640
Vieira <i>et al.</i> (2011)	Diversas	304,6 - 712,6	80% Acetona	120	765
D'Abrosca <i>et al.</i> (2007)	Limoncella	76,0	80% Acetona	60	765
Carbone <i>et al.</i> (2011)	Diversas	166,0 ^(b)	70% Etanol	90	760
Wolfe <i>et al.</i> (2003a)	Diversas	309,1 – 588,8	80% Acetona	90	760
Eberhardt <i>et al.</i> (2000)	Red Delicious	290,2	80% Acetona	30	765
Almeida & Pintado (2007)	Casa Nova Alcobaça	529,0	Metanol/HCL ^(b)	(a)	750
Almeida & Pintado (2007)	Diversas Exóticas	147,0 – 613,0	Metanol/HCL ^(b)	(a)	750

(a) Dado não referido. (b) Proporção não indicada.

Tabela 3.3. Teor de Fenólicos Totais (TFT) em maçãs com casca (mg/100 g de peso fresco).

Referência Bibliográfica	Variedade	Teor de Fenólicos Totais (mg/100 g)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Vrhovsek <i>et al.</i> (2004)	Diversas	66,2 – 131,1	70% Acetona	90	700
Carbone <i>et al.</i> (2011)	Diversas	92,0 – 141,0	70% Etanol	90	760
Stratil <i>et al.</i> (2007)	Diversas	278,0 – 399,0	50% Metanol	(a)	760
Wolfe <i>et al.</i> (2003a)	Diversas	119,0 – 159,0	80% Acetona	90	760
Vieira <i>et al.</i> (2009)	Diversas	105,7 – 269,8	50% Acetona	(a)	760
Imeh & Khokhar (2002)	Diversas	359,9 – 420,5	50% Acetona	(a)	760
Feliciano <i>et al.</i> (2010) e Serra <i>et al.</i> (2010a)	Maçãs Tradicionais	64,2 – 164,7	Acetona	30	765
Feliciano <i>et al.</i> (2010) e Serra <i>et al.</i> (2010a)	Maçãs Exóticas	168,9 – 173,4	Acetona	30	765
Sun <i>et al.</i> (2002)	Maçãs Exóticas	272,1 ± 6,2	80% Acetona	90	760

(a) Dado não referido.

3.1.2. Carotenóides totais

Os carotenóides (luteína, zeaxantina, α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno, β -criptoxantina e licopeno) estão presentes em frutos e vegetais, e constituem um grupo de pigmentos de cor vermelha, laranja e amarela, com aplicações na indústria e na área da medicina. Estes compostos são antioxidantes naturais com efeitos bioprotetores relativamente ao cancro, doenças cardiovasculares, cataratas, desordens neurológicas, inflamatórias e do sistema imunitário. Alguns carotenóides (α -caroteno, o β -caroteno e o β -criptoxantina) apresentam atividade de provitamina A, ou seja são convertíveis em retinol (vitamina A), uma das vitaminas mais importantes na proteção do organismo contra os radicais livres e *stress* oxidativo (Kim *et al.*, 2007; Setiawan *et al.*, 2001; Kidmose *et al.*, 2001). Os carotenóides atuam como antioxidantes na quelação do oxigénio singlete e na ativação de genes, mas também desempenham funções que conduzem ao fortalecimento do sistema imunitário e à redução de processos inflamatórios. As diferentes ações dos carotenóides a nível biológico contribuem para a prevenção de doenças degenerativas, como o cancro, doenças cardiovasculares, cataratas e degeneração macular (Setiawan *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2009; Feliciano *et al.*, 2010).

A maçã é um fruto com um teor de carotenóides relativamente baixo, sobretudo devido à quase inexistência de α -caroteno, γ -caroteno e licopeno, e à baixa concentração de outros carotenóides, nomeadamente de zeaxantina, luteína, β -caroteno e β -criptoxantina (Dias *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2007). A concentração de carotenóides varia entre variedades e a fração do fruto analisada, sendo que na casca se concentram a maioria dos carotenóides do fruto (Hart & Scott, 1995). Biehler e co-autores indicam que a quase totalidade dos carotenóides presentes em frutos e vegetais corresponde ao somatório de 5 compostos: luteína, β -caroteno, critptoxantina, zeaxantina e licopeno (Biehler *et al.*, 2010). Trabalhos anteriores dão conta de que os carotenóides totais em maçãs derivam sobretudo da luteína, do β -caroteno e da critptoxantina e, em menor quantidade, da zeaxantina e do licopeno (Tabela 3.4). Setiawan e colaboradores encontraram um elevado teor de licopeno em maçãs com casca (variedade não indicada), um resultado diferente dos restantes perfis de carotenóides encontrados na literatura (Setiawan *et al.*, 2001).

Tabela 3.4. Carotenóides totais em Maçãs.

Referência Bibliográfica	Variedade	Porção Analisada	µg/100 g de peso fresco (polpa + casca)							Somatório
			α -caroteno	β-caroteno	γ -caroteno	Zeaxantina	Licopeno	Luteína	β-criptoxantina	
(1)	Não indicado	Maçã	-	35	-	13	nd	84	11	143
(1)	Não indicado	Casca	-	190	39	16	nd	434	20	699
(2)	Não indicado	Maçã	-	nd-152	-	nd	60-308	-	70-167	130-627
(3)	Não indicado	Maçã	-	27	-	nd	nd	29 ^(a)	11	67
(3)	Não indicado	Polpa	-	17	-	nd	nd	18 ^(a)	13	48
(4)	Não indicado	Maçã	-	19,4	-	0,5	nd	1,1	0,9	22
(5)	Bravo de Esmolfe	Maçã	1,3	10	-	1,9	nd	17	0,9	30
(5)	Golden Delicious	Maçã	nd	34	-	nd	nd	3,2	nd	37
(5)	Golden Delicious	Maçã	nd	63	-	1,8	nd	1,6	nd	66
(5)	Jonagold	Maçã	nd	26	-	nd	nd	3,5	nd	30
(5)	Reineta Parda	Maçã	nd	17	-	2	nd	10	4	33
(5)	Royal Gala	Maçã	nd	11	-	nd	nd	2,2	nd	13
(5)	Starking	Maçã	nd	13	-	3	nd	9,7	nd	26
(5)	Starking	Maçã	nd	48	-	1,8	nd	16	nd	66
(5)	Starking	Maçã	nd	36	-	2,2	nd	10	nd	48
(5)	Diversas (amplitude)	Maçã	nd – 1,3	10 – 63	-	nd – 3	nd	1,6 – 17,0	nd – 4	13 – 66
(6)	Não indicado	Maçã	-	-	-	-	-	-	-	210 – 590

(a) Valor da luteína + zeaxantina.

(1) Hart & Scott (1995); (2) Setiawan *et al.* (2001); (3) USDA (2011); (4) Kim *et al.* (2007); (5) Dias *et al.* (2009); (6) Biehler *et al.* (2010).

3.1.3. Atividade antioxidante

Os frutos e os vegetais estão entre os principais alimentos com propriedades antioxidantes na dieta humana (Heim *et al.*, 2002) e a maçã é um dos frutos mais interessantes neste domínio. Num estudo onde é comparada a atividade antioxidante de vários frutos (arandos, maçãs, uvas, morangos, ananás, bananas, pêsegos, limões, laranjas, peras e toranjas) Sun *et al.* (2002) concluíram que, dos frutos estudados, a maçã é o segundo com maior atividade antioxidante, logo a seguir ao arando (Figura 3.2).

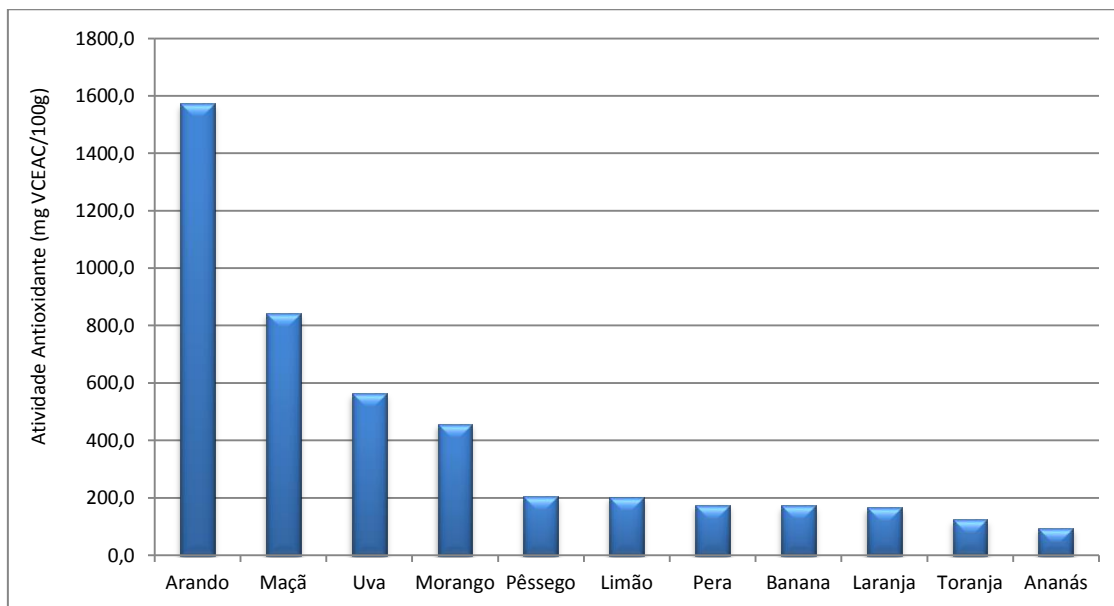


Figura 3.2. Atividade antioxidante de 11 frutos (TOSC - *Total Oxidant Scavenging Capacity*) (Sun *et al.*, 2002).

Têm sido estudados uma série de compostos que podem contribuir para os efeitos antioxidantes no organismo humano associados ao consumo de fruta, entre os quais a vitamina C, tocoferóis, diversos carotenóides e um número ainda maior de flavonóides e de polifenóis. Ainda que fosse possível identificar e medir todos estes compostos num dado alimento, essa informação poderia não estar perfeitamente correlacionada com as propriedades antioxidantes globais, visto que ocorrem interações entre os antioxidantes individuais que conduzem a efeitos sinérgicos e antagónicos muito difíceis de antecipar. Como tal, apesar de não dar qualquer informação relativa à composição, a medição da capacidade antioxidante total de frutos e produtos vegetais pode ser mais eficiente e representativa da sua atividade biológica real (Collins, 2005; Temple & Gladwin, 2003). Alguns compostos têm vindo a ser particularmente associados à atividade antioxidante demonstrada pelos frutos. Em particular, os derivados de quercetina têm sido apontados como os maiores contribuidores para a atividade antioxidante de diversos alimentos (Marchand *et al.*, 2000; W.C.R.F./A.I.C.R., 2007). Todavia, outros estudos atribuem a outros compostos (como as procianidinas) uma atividade antioxidante

superior à da quercetina (Vanzani *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2002; Chinnici *et al.*, 2004b). Segundo Tsao e colaboradores, o componente fenólico que mais contribui para a atividade antioxidante de maçãs é a cianidina-3-galactosídeo, seguindo-se as procianidinas, os glicosídeos de quercetina, o ácido clorogénico e, por fim, a floridzina. (Tsao *et al.*, 2005).

A atividade antioxidante em frutos e vegetais tem vindo a ser estudada através de diversas metodologias. As técnicas de avaliação da atividade antirradicalar relativamente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e da capacidade antioxidante de redução férrica FRAP (Capacidade de Redução Férrica), estão entre as metodologias mais utilizadas, porventura por serem de fácil implementação, baseadas em reações colorimétricas rápidas e que não dependem de equipamentos especiais, para além de um espectrofotómetro (Carbone *et al.*, 2011; Halvorsen *et al.*, 2002).

Todavia, apesar da sua reconhecida utilização em diversas matrizes, não existem muitos estudos que se tenham debruçado sobre a atividade antirradicalar do DPPH da maçã inteira (polpa + casca). Os trabalhos de Kim e colaboradores e de Wojdyło e colaboradores estão entre os poucos que se conhecem com base no fruto inteiro e indicam valores de 136,0 mg VCEAC/100 g PF (*Gala*) (Kim *et al.*, 2002), e entre 2,53 e 32,29 mg TEAC/100 g de peso seco (67 variedades) (Wojdyło *et al.*, 2008). Foram encontrados outros trabalhos, mas dado que os resultados apresentados foram expressos em percentagem de inibição (D'Abrosca *et al.*, 2007), ou concentração inibitória de 50% – IC₅₀ (concentração da amostra que produz uma neutralização de 50% dos radicais DPPH) (Lu & Foo, 2000; Ćetković *et al.*, 2008) –, são de mais difícil comparação com resultados expressos em equivalentes de um determinado padrão. No que concerne às frações polpa (Tabela 3.5) e casca (Tabela 3.6), os trabalhos disponíveis são em maior número e reportam a ocorrência de uma atividade antirradicalar maior na casca do que na polpa.

Tabela 3.5. Atividade Antioxidante (DPPH) em polpa de maçãs (por 100 g de peso fresco).

Referência	Variedade	Atividade Antioxidante	Unidades equivalentes (mg)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	Vários	23,6 – 44,6	AEAC	Metanol/BHT (99/1)	30	520
Yuri <i>et al.</i> (2009)	Vários	50,0 ^(a)	CAE	80% Etanol	8	515
Vieira <i>et al.</i> (2009)	Vários	86,71 – 223,06	VCEAC	80% Acetona	30	515
Carbone <i>et al.</i> (2011)	Vários	41,6 ^(a)	CEAC	70% Etanol	90	517
Chinnici <i>et al.</i> (2004b)	Golden Delicious	157,2 – 178,2	TEAC	95% Metanol	Até estabilizar	517

(a) – Valor médio. AEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Ácido Ascórbico; CAE - Equivalentes de Ácido Clorogénico; CEAC - Atividade Antioxidante Equivalentes de Catequina; VCEAC - Atividade Antioxidante Equivalente à Vitamina C; TEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox.

Tabela 3.6. Atividade Antioxidante (DPPH) em casca de maçãs (por 100 g de peso fresco).

Referência	Variedade	Atividade Antioxidante	Unidades equivalentes (mg)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Petkovšek <i>et al.</i> (2007)	Vários	82,9 – 178,1	AEAC	Metanol/BHT (99/1)	30	520
Yuri <i>et al.</i> (2009)	Vários	227,0 – 896,0	CAE	80% Etanol	8	515
Vieira <i>et al.</i> (2009)	Vários	251,29 – 970,56	VCEAC	80% Acetona	30	515
Carbone <i>et al.</i> (2011)	Vários	19,7 ^(a)	CEAC	70% Etanol	90	517
Chinnici <i>et al.</i> (2004b)	Golden Delicious	374,4 – 464,5	TEAC	95% Metanol	Até estabilizar	517

(a) – Valor médio. AEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Ácido Ascórbico; CAE - Equivalentes de Ácido Clorogénico; CEAC - Atividade Antioxidante Equivalentes de Catequina; VCEAC - Atividade Antioxidante Equivalente à Vitamina C; TEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox.

Conclusões semelhantes são apresentadas em estudos que têm avaliado a atividade redutora em maçãs segundo a técnica FRAP. De facto, também neste caso, a casca (Tabela 3.7) revela uma capacidade redutora superior à polpa (Tabela 3.8) e ao fruto inteiro (Tabela 3.9). Os dados disponíveis na literatura mostram que existem variações de acordo com as variedades e metodologia utilizadas, e evidenciam que a atividade redutora é geralmente superior em amostras que utilizam acetona como solvente. Esta diferença pode resultar da capacidade da acetona em extrair compostos menos polares que apresentam baixa solubilidade em solventes hidroalcoólicos.

Tabela 3.7. Atividade Antioxidante (FRAP) em casca de maçãs (por 100 g de peso fresco).

Referência	Variedade	Atividade Antioxidante	Unidades equivalentes (mg)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Khanizadeh <i>et al.</i> (2008)	Várias	174,5 – 451,9	AEAC	70% Metanol	4	593
Vieira <i>et al.</i> (2011)	Várias	130,3 – 290,5	TEAC	80% Etanol	10	620

(a) – Valor médio. AEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Ácido Ascórbico; TEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox.

Tabela 3.8. Atividade Antioxidante (FRAP) em polpa de maçãs (por 100 g de peso fresco).

Referência	Variedade	Atividade Antioxidante	Unidades equivalentes (mg)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Khanizadeh <i>et al.</i> (2008)	Vários	32,3 – 124,6	AEAC	70% Metanol	4	593
Vieira <i>et al.</i> (2011)	Vários	35,1 – 65,5	TEAC	80% Etanol	10	620

(a) – Valor médio. AEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Ácido Ascórbico; TEAC - Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox.

Tabela 3.9. Atividade Antioxidante (FRAP) em maçãs (polpa + casca) (por 100 g de peso fresco).

Referência	Variedade	Atividade Antioxidante	Unidades equivalentes (mg)	Solvente	Tempo Incubação (min)	Comp. Onda (nm)
Stratil <i>et al.</i> (2006)	Diversas	199,0 – 224,8	mg FeSO ₄	50% Metanol	4	593
Stratil <i>et al.</i> (2006)	Diversas	244,6 – 282,6	mg FeSO ₄	50% Metanol	10	593
Stratil <i>et al.</i> (2006)	Diversas	305,3 – 367,6	mg FeSO ₄	50% Metanol	30	593
Imeh & Khokhar (2002)	Diversas	307,7– 525,4	mg CEAC	50% Acetona	4	593
Imeh & Khokhar (2002)	Diversas	403,5– 653,1	mg CEAC	50% Acetona	10	593
Imeh & Khokhar (2002)	Diversas	531,2– 838,9	mg CEAC	50% Acetona	30	593
Halvorsen <i>et al.</i> (2002)	Diversas	22,8 - 77,5	mg FeSO ₄	90% Metanol	8	600

(a) Valor médio. CEAC - Atividade Antioxidante Equivalentes de Catequina.

Têm sido também utilizadas outras técnicas para a determinação da atividade antioxidante em frutos e vegetais, nomeadamente as técnicas ORAC (Capacidade de absorção de radicais de oxigénio), HORAC (Capacidade de inibição do radical hidroxilo) e EPR (Ressonância paramagnética eletrônica), que produzem resultados muito distintos, e portanto complementares, quando aplicadas às mesmas amostras (Serra *et al.*, 2010a).

As variações observadas na determinação da atividade antioxidante de uma dada amostra, mesmo que aplicada a mesma técnica analítica, podem resultar essencialmente de fatores intrínsecos à própria amostra (o chamado efeito de matriz), mas também das condições de extração, nomeadamente a composição do solvente de extração, a temperatura, a duração da extração e a razão solvente/amostra (Michiels *et al.*, 2012).

3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1. Materiais

A acetona, o metanol e o hexano foram adquiridos à JMGS (Odivelas, Portugal). O 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) foi comprado à Fluka (Steinheim, Alemanha). O ácido acético glacial, o acetato de sódio trihidratado (tampão acetato) e o carbonato de sódio anidro provieram da Panreac (Barcelona, Espanha), e o ácido clorídrico da Merck (Darmstadt, Alemanha). O ácido gálico, o reagente Folin-Ciocalteu e o 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) foram adquiridos à Sigma–Aldrich (Steinheim, Alemanha), e o cloreto férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à Himedia Laboratories (Bombaim, Índia).

3.2.2. Otimização dos métodos de extração de compostos fenólicos

Considerando que a quantidade de antioxidantes extraídos de uma determinada matriz depende do solvente utilizado e do método de extração escolhido, o qual deve permitir uma completa extração dos compostos de interesse e evitar a sua alteração química (Hayouni *et al.*, 2007), foram realizados testes preliminares, utilizando a variedade *Royal Gala*, no sentido de selecionar as melhores condições de extração. Os parâmetros testados foram o solvente de extração, o tempo de manutenção no escuro e o número de extrações sucessivas de uma mesma amostra.

Os solventes testados foram os seguintes: acetona 100%, acetona/água (75/25; v/v), metanol 100% e metanol/água (75/25; v/v). Utilizou-se uma razão matriz:solventes de 1:3 (m/v), ou seja, adicionaram-se 50 g de maçã (polpa + casca) a 150 mL de cada um dos solventes de extração. De seguida, as amostras foram trituradas durante 1 minuto com um triturador mecânico e mantidas no escuro durante 2 horas à temperatura ambiente. Após este período, filtrou-se a vácuo com filtro Whatman n.º 1 e determinou-se o teor de polifenóis totais de acordo com o método Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965; Singleton *et al.*, 1999). As determinações foram realizadas em duplicado e os resultados expressos em mg de GAE/100 g PE.

Posteriormente, testou-se o efeito do número de extrações na eficiência total para o solvente acetona a 100%. Para isso utilizaram-se 150 mL de acetona na primeira extração e efetuaram-se 5 extrações sucessivas adicionais dos resíduos, utilizando em cada extração um volume de 50 mL de acetona. O tempo de manutenção no escuro foi mantido (2 horas). Por fim, determinou-se o teor de polifenóis totais de acordo com o método Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965; Singleton *et al.*, 1999). As determinações foram realizadas em duplicado e os resultados expressos em mg de GAE/100 g PF.

Foram também avaliados e testados o efeito da extração com um solvente acidificado, a realização de uma segunda extração com um solvente prótico e a variação do período de permanência no escuro, durante o qual a extração se processa. Assim, efetuou-se uma 2ª extração com solvente prótico (metanol), puro ou acidificado com 1% de ácido acético, e para cada condição de extração testaram-se tempos de manutenção no escuro de 15, 30, 45, 60 e 75 minutos. Em cada extração trituraram-se 50 g de maçã (polpa + casca) em 150 mL de acetona (100%), durante 1 minuto. A mistura foi mantida no escuro durante 15 minutos e, de seguida, filtrada a vácuo e reservada ao abrigo da luz. Aos resíduos resultantes da filtração, juntaram-se 50 mL de metanol puro ou acidificado com ácido acético até uma concentração final de 1% (v/v).

A segunda extração foi efetuada com tempos de incubação no escuro de 15, 30, 45, 60 e 75 minutos, em cada extração (totalizando tempos globais de extração de 30 a 150 minutos). De seguida determinou-se o teor de polifenóis totais de acordo com o método Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965; Singleton *et al.*, 1999). As determinações foram realizadas em duplicado e os resultados expressos em mg de GAE/100 g PE.

3.2.3. Procedimento de extração

Tendo em consideração os resultados dos testes preliminares acabados de descrever, optou-se por efetuar duas extrações sucessivas da mesma amostra, a primeira apenas com acetona 100% e a segunda com uma mistura de metanol e 1% de ácido acético (99:1; v/v).

Para minimizar variações devidas às características fisiológicas de cada maçã individual, foram selecionadas aleatoriamente 5 maçãs congeladas de cada variedade, em perfeitas condições de maturação e sem sinais de doenças. Para evitar o início do processo de descongelação, as maçãs foram imediatamente descascadas e cortadas em pequenas fatias no sentido longitudinal. As porções não comestíveis foram eliminadas, incluindo as sementes. Pesou-se 10 g de polpa de cada um dos 5 exemplares (num total de 50 g por variedade de maçã), porção que foi mergulhada de imediato em 150 mL de acetona para impedir a ação das polifenoloxidasas (Wolfe & Liu, 2003b) e a possível deterioração de alguns compostos fenólicos (Van der Sluis *et al.*, 2001; El-Shimi, 1993, Anovitz-Klapp *et al.*, 1990). A mistura foi triturada usando um triturador mecânico (Bosch 1600 W, Stuttgart, Germany) durante 1 minuto e incubada no escuro durante 60 minutos. Após este período, a mistura foi filtrada usando uma bomba de vácuo (Millipore, Maidstone, England) com filtro Whatman n.º 1 e reservada no escuro. Aos resíduos resultantes da filtração, adicionaram-se 50 mL de metanol acidificado com ácido acético até uma concentração de 1% (v/v). De seguida a solução foi homogeneizada e reservada no escuro durante mais 60 minutos. Findo este período, filtrou-se novamente a vácuo. O extrato resultante foi combinado com o extrato primário e a mistura foi armazenada a -54°C.

Procedeu-se de igual forma para a casca, com a exceção do peso da amostra que foi de 1 g de casca a partir de cada exemplar (num total de 5 g por cada variedade de maçã), ou seja 10% da quantidade de polpa utilizada.

Após a congelação a -54°C durante uma semana os extratos foram transferidos para uma câmara à temperatura de -20°C, onde ficaram armazenados até à posterior análise.

3.2.4. Teor de Fenólicos totais (Folin-Ciocalteu)

Para a determinação do teor de fenólicos totais (TFT) foi utilizado o método Folin-Ciocalteu (FC), que se baseia no poder de redução dos grupos hidroxilo ou carboxilato de compostos fenólicos e é usado com frequência na avaliação do somatório dos compostos fenólicos em extratos de plantas, frutos e sumos (Ćetković *et al.*, 2008; Stratil *et al.*, 2007).

O método foi conduzido de acordo com o descrito por Singleton & Rossi (1965) e por Singleton *et al.* (1999), com algumas modificações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,1 mL de extrato, 0,3 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente FC e, após 5 minutos de reação, 2 mL de carbonato de sódio (5%). Depois de agitados, os tubos foram deixados no escuro durante 120 minutos. Posteriormente, mediu-se a absorvância a 765 nm usando um espectrofotómetro Pharmacia Novaspec II (Biochrom, England). Foi realizada uma curva de calibração utilizando padrões de ácido gálico na gama de 50 a 400 mg/L e 2 brancos (metanol). Todas as amostras foram determinadas em duplicado e os resultados expressos em mg de GAE/100 g de peso fresco.

3.2.5. Carotenóides totais

Os carotenóides totais foram determinados com base no método do coeficiente de absorção molar médio apresentado por Biehler *et al.* (2010), com algumas alterações. As maçãs foram retiradas da câmara de conservação a -20°C e cortadas em fatias longitudinais. A casca foi separada da polpa e pesaram-se amostras de 10 g de polpa e 2,5 g de casca, que foram de seguida trituradas, usando um triturador mecânico (Bosch 1600 W, Stuttgart, Germany), em 50 mL de acetona. Procedeu-se posteriormente à filtração a vácuo (Millipore, Maidstone, England) da mistura com filtro Whatman n.º 1 e à medição do volume resultante. Transferiu-se o extrato para uma ampola de decantação e adicionaram-se 5 mL de água destilada e 15 mL de hexano; homogeneizou-se a mistura e procedeu-se à recolha da fase orgânica. A fase aquosa foi re-extraída 2 vezes, com porções de 15 mL de hexano. Os extratos orgânicos foram combinados e evaporados à secura em rotavapor (Buchi/Rotavapor R-200, Flawil, Suíça), à temperatura de 25°C. Posteriormente, o extrato foi redissolvido em 4 mL de hexano, filtrado em pipeta Pasteur com rolha de algodão, para eliminar eventuais precipitados e suspensões, e foi determinada a sua absorvância a 450 nm utilizando um espectrofotómetro Pharmacia Novaspec II (Biochrom, England). O teor de carotenóides totais foi calculado com base na equação de Biehler *et al.*

(2010), apresentada de seguida (Eq. 3.1), que utiliza um coeficiente molar médio determinado a partir dos compostos β -caroteno, zeaxantina, licopeno, luteína e criptoxantina, que representam a quase totalidade dos carotenóides em frutos.

$$C \text{ (mol / L)} = \frac{A_{450} \times Fd}{135310} \quad (d = 1 \text{ cm}) \quad \text{Eq. 3.1.}$$

onde A_{450} é absorvância a 450 nm, F é o fator de diluição, d é o percurso ótico da célula de medida. Utilizou-se como um coeficiente de extinção molar o valor médio destes coeficientes (135310) para os principais carotenóides presentes em frutos.

Uma vez que os valores são extraídos da equação em massa molar média (mol/L), os resultados foram depois convertidos para massa/massa, por forma a poderem ser expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ de peso fresco (Eq. 3.2). Todas as determinações foram efetuadas em duplicado.

$$C_m \text{ (}\mu\text{g / 100g)} = \frac{4 \times 10^5 \times C \times \overline{MM}}{m_a} \quad \text{Eq. 3.2.}$$

onde C é a concentração de carotenóides na solução analisada expressa em moles/L, \overline{MM} é a massa molar média dos carotenóides considerados (553 g/mol) (Biehler *et al.*, 2010) e m_a é a massa de maçã (polpa ou casca) utilizada na extração.

3.2.6. Atividade antioxidante

3.2.6.1. DPPH

A atividade antiradicalar dos extratos de maçãs relativamente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) foi medida de acordo com o método proposto por Carbone e colaboradores, com algumas modificações (Carbone *et al.* 2011). Este método baseia-se na redução do radical livre estável DPPH por um antioxidante. Devido ao eletrão desemparelhado que possui, o DPPH apresenta uma forte absorvância a 517 nm em espectrofotometria visível (cor roxa) (Figura 3.3). Quando o radical DPPH é neutralizado, este eletrão passa a estar envolvido numa ligação com um átomo de hidrogénio, pelo que a absorvância a 517 nm diminui de forma proporcional à neutralização do radical (Yamaguchi *et al.*, 1998).

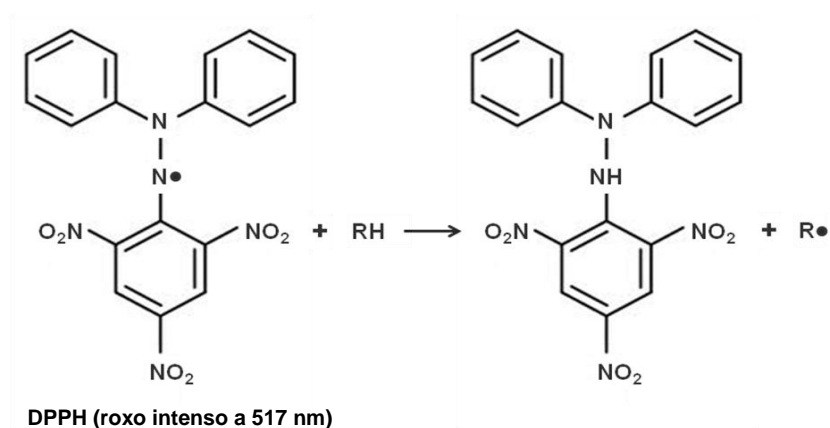


Figura 3.3. Sequestração do radical DPPH por um antioxidante (adaptado de Yamaguchi *et al.*, 1998).

Em tubos de ensaio, foram adicionados 4,0 mL da solução DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), preparada diariamente (66 mg/L, em metanol), e 0,2 mL de extrato de maçãs. A mistura foi homogeneizada e deixada no escuro durante 120 minutos. A absorvância foi medida num espectrofotómetro Pharmacia Novaspec II (Biochrom, England) a 517 nm contra dois brancos (metanol).

Todas as determinações foram realizadas em duplicado e foi produzida uma curva de calibração do método com padrões de ácido gálico na gama de 5 a 100 mg/L, analisados em condições análogas. Os resultados foram expressos em mg de GAE/100 g de peso fresco.

3.2.6.2. FRAP

O método FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power) foi utilizado de acordo com o descrito por Benzie & Strain (1996) e Imeh & Khokhar (2002), com algumas modificações. Este método mede a capacidade dos compostos antioxidantes presentes na amostra em reduzir o complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPTZ) à forma ferrosa (Fe^{2+}) de cor azul, facto que permite avaliar o processo de redução através da determinação da absorvância a 593 nm (Suárez *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2008; Guo *et al.*, 2003; Halvorsen *et al.*, 2002) (Figura 3.4).

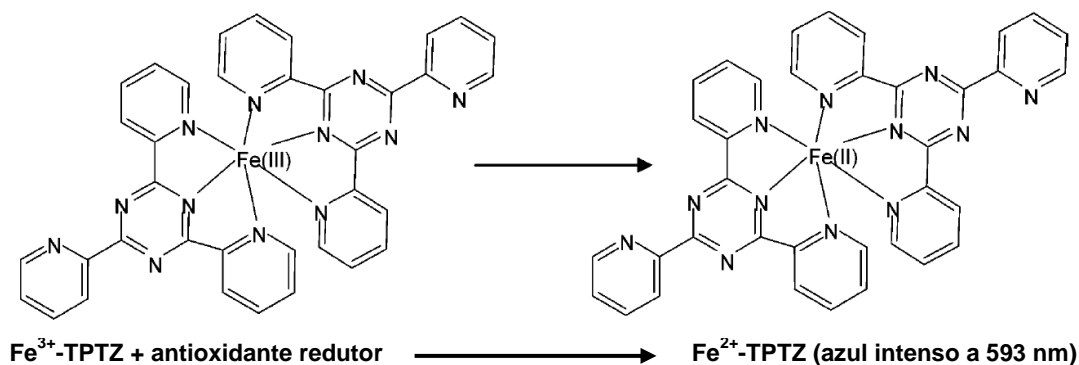


Figura 3.4. Reação do teste FRAP (adaptado de Prior *et al.*, 2005).

O reagente FRAP é composto por uma solução 10 mM de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) em HCl diluído (40 mM), solução aquosa de FeCl_3 (20 mM) e tampão acetato de pH 3,6 (300 mM), combinadas na proporção de 10:1:1 (v/v/v). Este reagente, preparado de fresco diariamente num frasco opaco, foi mantido num banho termostático a 37 °C durante todo o período de utilização. A mistura de teste obteve-se misturando 3,0 mL de reagente FRAP com 0,2 mL de extrato de maçã. A mistura foi homogeneizada e incubada a 37 °C, durante 30 minutos, período após o qual foi determinado a sua absorvância a 593 nm usando um espectrofotómetro Phamacia Novaspec II (Biochrom, England). Foi traçada uma curva de calibração do método utilizando padrões de ácido gálico (gama de concentrações: 2,5 a 40 mg/L) e 2 brancos (metanol), que foram submetidos ao mesmo processo reacional. Todas as determinações foram efetuadas em duplicado e os resultados expressos em mg de GAE/100 g de peso fresco.

3.2.7. Análise estatística

O tratamento estatístico foi executado com o programa informático SPSS (IBM® SPSS® Statistics, versão 19, 2010). Efetuou-se a análise de variância com um fator (ANOVA a um fator) e executaram -se comparações múltiplas de médias através do teste de Tukey. Fixou-se o nível de significância estatística em $p < 0,05$ e a homogeneidade das variâncias foi avaliada tal como enunciado por Toothaker (1993).

Foram usadas as mesmas funções estatísticas, ou seja, a ANOVA a um fator e o Teste de Tukey, para a comparação das médias calculadas de cada variável para os grupos de maçãs exóticas e tradicionais, e para o grupos de maçãs segundo a sua origem geográfica.

Quando uma variedade de maçãs apresentou médias individuais de uma determinada variável significativamente diferentes das restantes cultivares do mesmo grupo, repetiu-se o cálculo das médias sem considerar este elemento com um comportamento distinto.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Testes preliminares

A otimização das melhores condições de avaliação do teor de compostos fenólicos das maçãs e da sua atividade antioxidante, foi efetuada através de um conjunto de testes preliminares, tendo em consideração a informação contida na literatura. A escolha das condições ideais de extração é um passo fundamental, pois condiciona os resultados que se vão obter nas etapas subsequentes e pode ser fortemente afetado pelas características da amostra. Este efeito de matriz está frequentemente na origem das discrepâncias encontradas nas opções dos vários autores.

No presente trabalho procurou-se estudar o efeito da natureza do solvente, do pH do meio, do número de extrações sucessivas e do tempo de contacto entre o solvente e a amostra, na eficiência de extração de compostos fenólicos, ou outros, que podem afetar a capacidade antioxidante do extrato. Os solventes selecionados para testar o efeito da natureza do solvente foram a acetona e o metanol, na forma pura ou sob a forma de soluções aquosas a 75% (Figura 3.5).

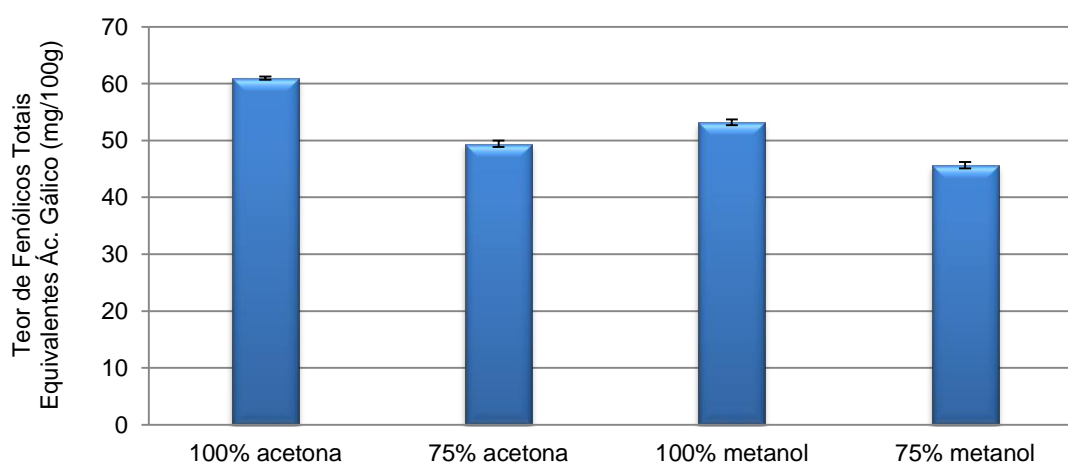


Figura 3.5. Efeito da natureza do solvente de extração no teor de compostos fenólicos totais de maçãs da variedade *Royal Gala*.

Os resultados mostraram uma maior eficiência do solvente acetona a 100% na extração de fenólicos, seguido do metanol 100%, da acetona/água (75/25; v/v) e, por fim, da mistura metanol/água (75/25; v/v) – o que se aproxima muito mais das conclusões apresentadas por Soares *et al.* (2008) do que das de Peschel *et al.* (2006). Por outro lado, os extratos de acetona a 100% foram os que apresentaram uma cor mais clara sem quaisquer evidências de oxidação o que não aconteceu nos extratos de acetona a 75% ou metanol a 75%. Dado que as maçãs têm um teor de água apreciável, quando o próprio solvente de extração também tem água, as

condições do meio podem permitir a atividade da enzima polifenoloxidase, que contribui para a oxidação dos polifenóis, diminuindo os resultados obtidos na reação de Folin-Ciocalteu e nos testes de atividade antioxidante. Além disso, o escurecimento do extrato é também indesejável uma vez que a seguir se pretendem realizar reações colorimétricas.

Por outro lado pretendeu-se avaliar se a realização de extrações suplementares pode melhorar a recuperação dos compostos fenólicos da amostra e quantas extrações são necessárias para atingir esse objetivo. São conhecidos vários trabalhos realizados com o bagaço de maçã (Ćetković *et al.*, 2008; Van der Sluis *et al.*, 2001; Queji *et al.*, 2010; García *et al.*, 2009), que indicam que é possível extrair uma quantidade muito significativa de polifenóis a partir deste resíduo. O estudo conduzido por Goli e colaboradores aconselha a realização de duas extrações sucessivas da mesma amostra, para completar a remoção dos compostos fenólicos (Goli *et al.*, 2005).

Assim testou-se a realização de 6 extrações sucessivas com 50 mL de acetona, a partir do resíduo da 1ª extração e avaliou-se o teor de fenólicos totais desses extratos (Figura 3.6).

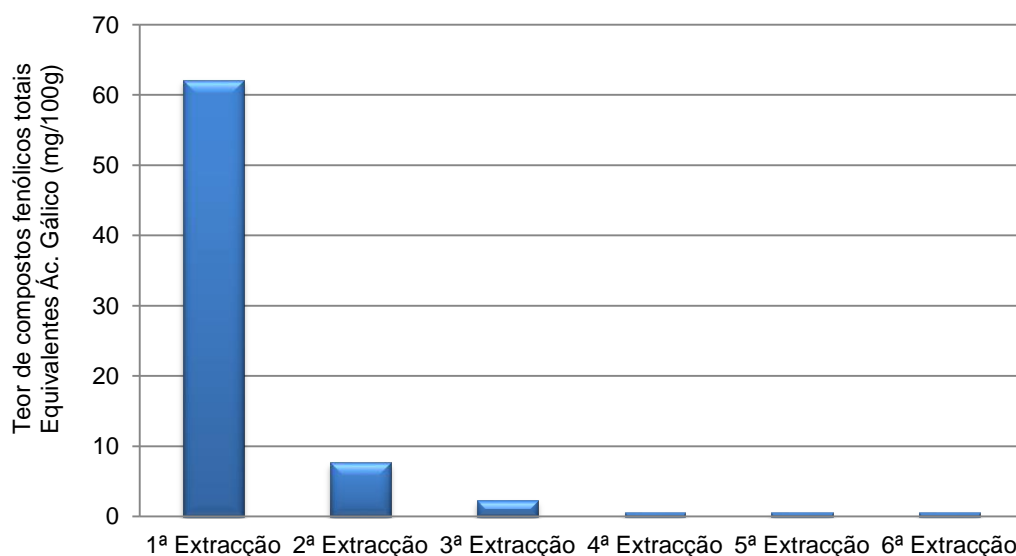


Figura 3.6. Teor de fenólicos totais de extratos correspondentes a 6 extrações sucessivas de maçãs da variedade *Royal Gala* com 100% de acetona.

Os resultados mostraram que grande parte dos polifenóis (84%) são extraídos durante a primeira extração, mas uma fração de 10,4% pode ser ainda recuperada na segunda extração. A soma das quatro extrações posteriores contabilizaram apenas 5,5% do total de polifenóis extraídos, sendo que a 5ª e 6ª extrações apresentaram valores semelhantes ao branco. Concluiu-se, portanto, que existe apenas interesse em realizar duas extrações sucessivas de uma mesma amostra, dado que estas correspondem a um rendimento total de extração superior a 90%, o que está de acordo com o proposto por Goli e co-autores (Goli *et al.*, 2005).

Alguns estudos (Van der Sluis *et al.*, 2001; Hayouni *et al.*, 2007; e Ćetković *et al.*, 2008) indicam ainda que a adição de uma pequena fração de ácido acético glacial (0,5% a 15%) facilita a extração de polifenóis, flavonóides, flavonóis, proantocianinas e antocianinas, e que extratos de acetona ou metanol com uma pequena porção de ácido acético exibem uma atividade antioxidante superior, quando comparado com outros métodos de extração nos quais não foi utilizado ácido (Hayouni *et al.*, 2007).

Assim considerou-se útil, testar o efeito de uma 2ª extração realizada em meio ácido para avaliar se o pH do meio pode facilitar a protonação dos grupos OH e a separação dos polifenóis em relação a outros componentes da matriz. Sendo o efeito do pH mais evidente na presença de um solvente prótico, optou-se por realizar a 2ª extração com metanol acidificado e procurou-se também avaliar a influência do tempo de contacto entre o solvente e a matriz (Figura 3.7).

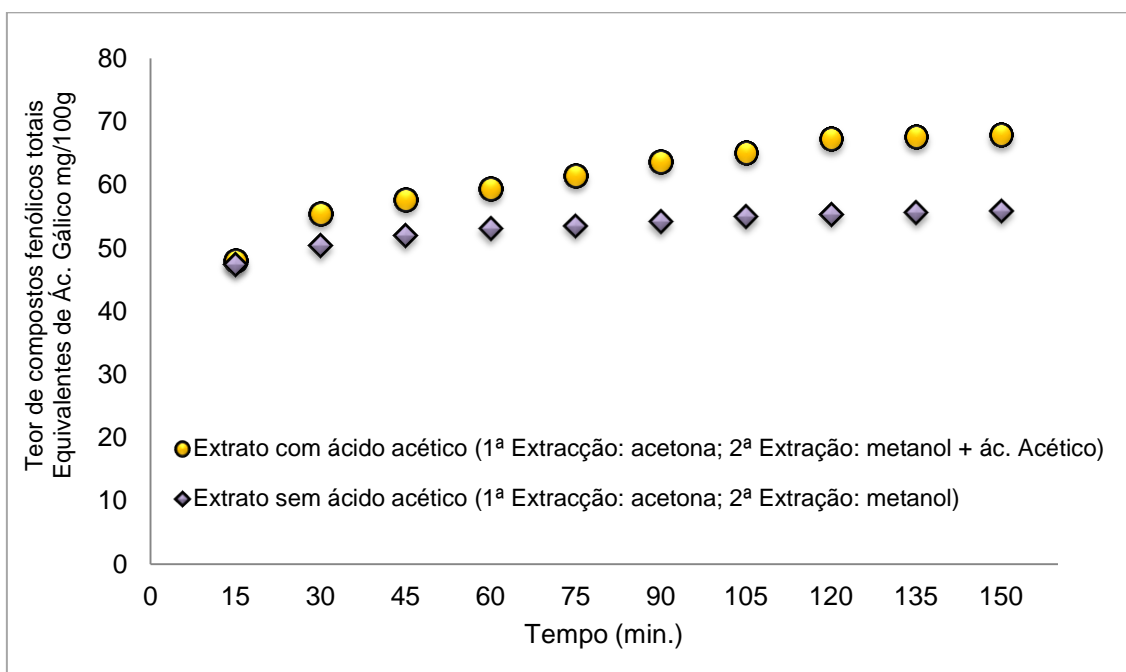


Figura 3.7. Influência da presença de ácido e do tempo de contacto entre solvente e matriz no teor de compostos fenólicos totais em extratos de maçãs da variedade *Royal Gala*.

Os resultados mostraram que a adição de ácido acético na concentração testada permite melhorar o índice de extração de polifenóis, verificando-se um aumento na extração destes compostos até um tempo de contacto entre solvente e matriz de 120 min. Este resultado é semelhante ao apresentado por outros autores em estudos envolvendo a mesma matriz (Ćetković *et al.*, 2008; Hayouni *et al.*, 2007).

Em face destes resultados preliminares optou-se por utilizar uma 2ª extração com metanol acidificado e um tempo total de contacto com a amostra de 120 min.

3.3.2. Teor de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais (TFT) foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu para as 17 variedades de maçãs envolvidas no estudo, para as frações polpa, casca e fruto inteiro (polpa + casca) (Figura 3.8).

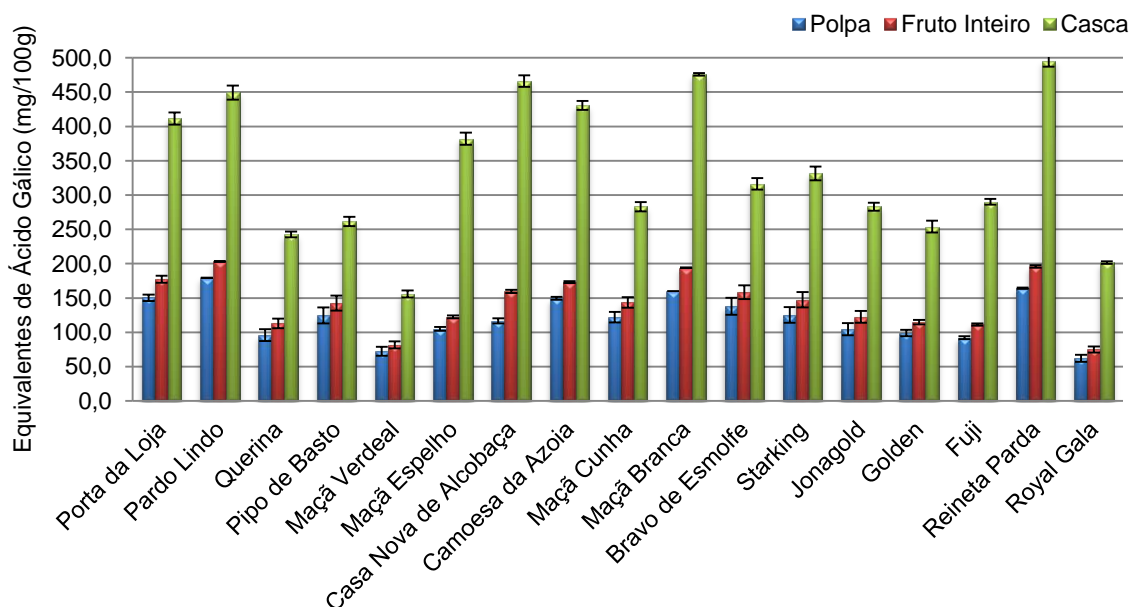


Figura 3.8. Teor de fenólicos totais de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas.

Os resultados revelaram valores de fenólicos totais muito distintos entre as diversas variedades, em acordo com o reportado por outros estudos que apontam exatamente as características inerentes às próprias variedades como o fator que mais influencia o teor de fenólicos totais entre maçãs (Yuri *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008; Kahle *et al.*, 2007; Petkovšek *et al.*, 2007; Łata *et al.*, 2005a; McGhie *et al.*, 2005). Contudo se compararmos as várias porções do fruto, as diferenças assumem ainda maior expressão e obrigam a uma análise segmentada. No que respeita à polpa do fruto os valores obtidos (Tabela 3.10) variam entre $35,51 \pm 42,67$ (*Royal Gala*) e $179,30 \pm 0,29$ mg GAE/100 g PF (*Pardo Lindo*), o que está de acordo com trabalhos anteriores, nomeadamente de Wolfe *et al.* (2003a) (75,7 a 103,2 mg GAE/100 g PF), de Vieira *et al.* (2011) (128,3 a 212,0 mg GAE/100 g PF) e de Almeida *et al.* (2011) (52 a 144 mg GAE/100 g PF). Os valores alcançados pela casca mostraram-se em média 2,9 vezes mais elevados do que os apurados para a polpa, entre $155,83 \pm 4,98$ (*Maçã Verdeal*) e $495,35 \pm 8,17$ mg GAE/100 g PF (*Reineta Parda*). Estes valores estão igualmente de acordo com os valores disponíveis na literatura, nomeadamente de Petkovšek *et al.* (2007) (106,0 a 352,9 mg GAE/100 g PF), de Wolfe *et al.* (2003a) (309,1 a 588,8 mg GAE/100 g PF) e de Almeida *et al.* (2011) (253 a 651 mg GAE/100 g PF). No que concerne ao fruto inteiro (polpa + casca) os dados obtidos variaram entre $50,77 \pm 38,57$ (*Royal Gala*) e $203,34 \pm 0,66$ mg

GAE/100 g PF (*Pardo Lindo*), valores também concordantes com estudos anteriores, designadamente de Vrhovsek *et al.* (2004) (66,2 a 211,9 mg GAE/100 g PF), de Vieira *et al.* (2011) (105,5 a 269,76 mg GAE/100 g PF), de Feliciano *et al.* (2010) (67,3 a 150,2 mg GAE/100 g PF) e de Serra (2010b) (64,2 a 173,4 mg GAE/100 g PF).

Tabela 3.10. Teor de fenólicos totais no fruto inteiro e nas frações polpa e casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Variedades	mg GAE/100 g de peso fresco			Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
	Polpa	Casca	Fruto (polpa + casca)	
Porta da Loja	150,37 ± 4,70 ^{gh}	411,54 ± 8,83 ^h	177,17 ± 5,13 ^{ef}	2,7
Pardo Lindo	179,30 ± 0,29ⁱ	449,21 ± 10,41 ^{ij}	203,34 ± 0,66^{fg}	2,5
Querina	95,91 ± 8,48 ^{bcd}	242,60 ± 4,37 ^c	112,82 ± 7,00 ^b	2,5
Pipo de Basto	124,54 ± 11,55 ^{efg}	261,39 ± 6,73 ^{cd}	142,43 ± 10,92 ^{cd}	2,1
Maçã Verdeal	72,47 ± 6,43 ^{ab}	155,83 ± 4,98^a	81,71 ± 5,17 ^a	2,2
Maçã Espelho	105,03 ± 2,70 ^{cde}	382,17 ± 8,82 ^g	122,43 ± 1,98 ^{bc}	3,6
Casa Nova de Alcobça	116,52 ± 3,74 ^{cdef}	465,99 ± 8,34 ^j	159,54 ± 2,26 ^{de}	4,0
Camoesa da Azoia	149,48 ± 2,15 ^{gh}	430,67 ± 6,44 ^{hi}	173,02 ± 1,43 ^{ef}	2,9
Maçã Cunha	122,08 ± 7,73 ^{def}	283,01 ± 6,83 ^d	143,36 ± 7,61 ^{cd}	2,3
Maçã Branca	160,05 ± 0,11 ^{hi}	475,77 ± 1,93 ^{jk}	194,11 ± 0,31 ^{fg}	3,0
Bravo de Esmolfe	137,90 ± 12,50 ^{fgh}	316,29 ± 8,58 ^{ef}	158,24 ± 10,1 ^{de}	2,3
Média	128,51 ± 5,49	352,22 ± 6,93	151,65 ± 4,78	2,7
Starking	125,17 ± 11,34 ^{efg}	331,49 ± 10,19 ^f	147,55 ± 11,21 ^d	2,6
Jonagold	104,49 ± 8,79 ^{cde}	282,97 ± 5,99 ^d	122,52 ± 8,51 ^{bc}	2,7
Golden Delicious	99,07 ± 4,60 ^{bcd}	253,91 ± 8,54 ^c	114,84 ± 3,27 ^b	2,6
Fuji	92,03 ± 2,11 ^{bc}	290,18 ± 4,31 ^{de}	111,32 ± 1,49 ^b	3,2
Reineta Parda	164,39 ± 1,01 ^{hi}	495,35 ± 8,17^k	195,95 ± 1,69 ^{fg}	3,0
Royal Gala	62,03 ± 5,18^a	201,57 ± 2,02 ^b	74,85 ± 4,52^a	3,2
Média	107,86 ± 5,51	309,24 ± 6,54	127,84 ± 5,11	3,3

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa. Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Em média as variedades tradicionais apresentaram teores de fenólicos significativamente mais elevados ($p < 0,05$) do que as variedades exóticas, tanto na polpa como no fruto inteiro. Salientam-se as variedades *Pardo Lindo*, *Reineta Parda*, *Maçã Branca*, *Porta da Loja* e *Camoesa da Azoia*, por possuírem valores muito elevados em todas as frações do fruto analisadas, em especial a cultivar *Pardo Lindo* que, na fração polpa e também no fruto inteiro, mostrou uma concentração de fenólicos totais substancialmente superior ($p < 0,05$) a todas as restantes variedades, com exceção das maçãs *Branca* e *Reineta Parda*, em relação às quais não se observaram diferenças estatisticamente significativas. A casca da maçã *Reineta Parda* demonstrou possuir um teor de fenólicos totais significativamente superior a todas as variedades estudadas, com a exceção da variedade *Maçã Branca*. Não foram encontradas

diferenças com relevância estatística ($p > 0,05$) entre a média do teor de fenólicos dos diversos grupos geográficos (Minho, Viseu, Alcobaça, Torres Vedras e Sesimbra). Este resultado confirma que a origem geográfica não pode ser associada a um maior ou menor teor de fenólicos sendo este parâmetro mais influenciado pelas características fisiológicas da variedade.

A *Reineta Parda* foi a variedade exótica que maior conteúdo de fenólicos evidenciou, aproximando-se mais dos teores típicos do grupo das variedades tradicionais do que do grupo de maçãs das variedades exóticas. A *Reineta Parda* apresentou teores de fenólicos significativamente superiores a todas as outras variedades exóticas para todas as frações do fruto analisadas (polpa, casca e fruto inteiro) atingindo mesmo valores 2,6 vezes superiores aos obtidos para a maçã *Royal Gala*. Assim, a comparação da média dos teores de compostos fenólicos de maçãs exóticas e de maçãs tradicionais é fortemente influenciada pela presença da variedade *Reineta Parda* que contribui para esbater as diferenças entre estes dois grupos de maçãs.

Os resultados mostram ainda que os compostos fenólicos concentram-se sobretudo na casca do fruto, o que está de acordo com estudos anteriores que reportam que a casca é entre 1,5 a 4 vezes mais rica nestes compostos do que a polpa (Drogoudi *et al.*, 2008; Łata, 2007a; Imeh & Khokhar, 2002). Esta diferença pode dever-se à presença de alguns compostos fenólicos adicionais como os glicosídeos de quercetina e as antocianinas que podem encontrar-se de forma abundante na casca de maçãs Yuri *et al.* (2009).

3.3.3. Carotenóides totais

Os carotenóides foram encontrados sobretudo na casca das maçãs (Figura 3.9) e a sua concentração parece ser muito dependente da variedade do fruto, em acordo com o descrito por Dias e colaboradores (Dias *et al.*, 2009).

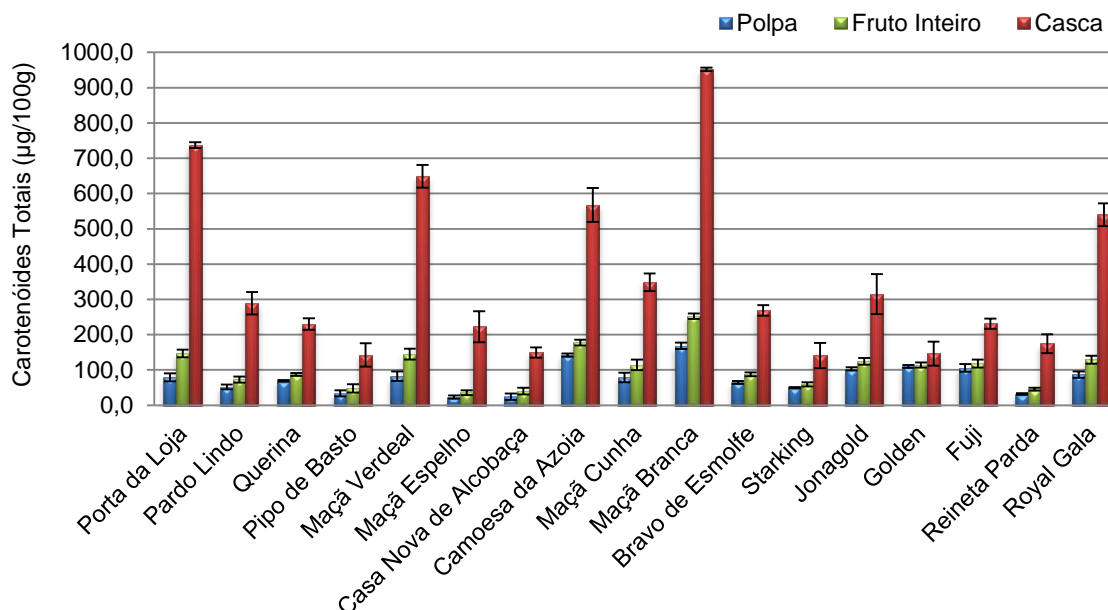


Figura 3.9. Carotenóides totais de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas.

Os resultados demonstraram que a casca possui um teor de carotenóides superior à polpa (Tabela 3.11), com valores de razão casca/polpa que se situaram entre 1,3 (*Golden Delicious*) e 9,3 (*Porta da Loja*), o que está conducente com estudos anteriores (Hart & Scott, 1995; USDA, 2011). Os valores obtidos variaram entre $23,24 \pm 4,20$ (*Maçã Espelho*) e $167,97 \pm 9,10$ (*Maçã Branca*) $\mu\text{g}/100 \text{ g PE}$, para a polpa, $140,28 \pm 35,80$ (*Starking*) e $952,12 \pm 4,71$ (*Maçã Branca*) $\mu\text{g}/100 \text{ g PE}$, para a casca e $35,50 \pm 6,36$ (*Maçã Espelho*) e $252,50 \pm 7,78$ (*Maçã Branca*) $\mu\text{g}/100 \text{ g PE}$, para o fruto inteiro (Tabela 3.11). Não são conhecidos outros estudos que reportem o teor de carotenóides totais em maçãs, para além do trabalho de Biehler *et al.* (2010), que sugere que estes podem ser calculados através do somatório dos carotenóides β -caroteno, zeaxantina, licopeno, luteína e criptoxantina, dado que representam a quase totalidade dos carotenóides presentes neste fruto. Com este método é possível estabelecer comparações com outros trabalhos, nomeadamente com a tabela de composição dos alimentos da USDA (2011), que apresenta valores de 67 e 48 $\mu\text{g}/100 \text{ g PE}$ para o teor de carotenóides totais de maçãs com casca e sem casca respetivamente. Outros autores indicam valores de 699 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ para a casca e de 143 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ para o fruto inteiro (Hart & Scott, 1995). A restante literatura refere apenas valores para o fruto inteiro: 210 a 590 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ (Biehler *et al.*, 2010); 143 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ (Hart & Scott, 1995); 130 a 627 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ (Setiawan *et al.*, 2001); 22 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ (Kim *et al.*, 2007); 13 a 67 $\mu\text{g}/100 \text{ g PF}$ (Dias *et al.*, 2009).

Os dados aqui apresentados estão de acordo com os trabalhos citados, muito embora se tenham observado algumas variações que estarão relacionadas com as diferentes variedades,

a área geográfica onde foram produzidas, as condições do solo, a exposição solar, o estado de maturação (Dias *et al.*, 2009) e o método de análise utilizado (Biehler *et al.*, 2010).

A fração casca e o fruto inteiro das variedades tradicionais mostraram possuir um teor médio de carotenóides totais superior ao das variedades exóticas. No caso da polpa constatou-se precisamente o contrário. A razão casca/polpa variou entre 1,3 e 9,6 vezes e mostrou ser em média mais elevada nas variedades tradicionais (5,8 vezes) do que nas exóticas (4,7 vezes).

Tabela 3.11. Carotenóides totais no fruto inteiro e nas frações polpa e casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

µg/100 g de peso fresco					Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
Variedades	Polpa	Casca	Fruto (polpa +casca)		
TRADICIONAIS	Porta da Loja	79,04 ± 11,40 ^{cde}	737,46 ± 8,27 ^g	146,50 ± 10,61 ^{de}	9,3
	Pardo Lindo	51,61 ± 6,69 ^{abcd}	288,94 ± 31,56 ^{cde}	72,50 ± 9,19 ^{ab}	5,6
	Querina	68,70 ± 2,23 ^{cd}	230,25 ± 16,44 ^{abcde}	87,50 ± 3,54 ^{bc}	3,4
	Pipo de Basto	33,81 ± 8,72 ^{ab}	142,15 ± 32,83 ^a	48,00 ± 11,31 ^a	4,2
	Maçã Verdeal	81,85 ± 13,63 ^{cde}	648,07 ± 31,99 ^{fg}	145,00 ± 15,56 ^{de}	7,9
	Maçã Espelho	23,24 ± 4,20 ^a	222,15 ± 43,72 ^{abcd}	35,50 ± 6,36 ^a	9,6
	Casa Nova de Alcobça	24,48 ± 9,04 ^a	149,06 ± 14,59 ^{ab}	40,00 ± 9,90 ^a	6,1
	Camoesa da Azoia	142,02 ± 4,41 ^f	567,29 ± 47,79 ^f	177,50 ± 7,78 ^e	4,0
	Maçã Cunha	78,82 ± 13,47 ^{cde}	348,15 ± 24,70 ^e	114,50 ± 14,85 ^{cd}	4,4
	Maçã Branca	167,97 ± 9,10 ^f	952,12 ± 4,71 ^h	252,50 ± 7,78 ^f	5,7
	Bravo de Esmolfe	64,46 ± 4,50 ^{bcd}	268,45 ± 14,94 ^{bode}	88,00 ± 5,66 ^{bc}	4,2
Média	74,18 ± 7,94	414,01 ± 24,68	109,77 ± 9,32	5,8	
EXTÓTICAS	Starking	49,43 ± 2,07 ^{abc}	140,28 ± 35,80 ^a	59,00 ± 5,66 ^{ab}	2,8
	Jonagold	102,82 ± 4,49 ^e	314,31 ± 56,89 ^{de}	124,00 ± 9,90 ^{cd}	3,1
	Golden Delicious	110,01 ± 4,35 ^e	145,99 ± 34,33 ^a	113,50 ± 7,78 ^{cd}	1,3
	Fuji	105,54 ± 10,95 ^e	230,93 ± 14,35 ^{abcde}	118,00 ± 11,31 ^{cd}	2,2
	Reineta Parda	31,83 ± 2,12 ^a	174,19 ± 26,40 ^{abc}	45,50 ± 4,95 ^a	5,5
	Royal Gala	87,09 ± 9,11 ^{de}	539,52 ± 32,08 ^f	129,00 ± 11,31 ^d	6,2
Média	81,12 ± 5,52	257,54 ± 33,31	98,17 ± 8,49	4,7	

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

Foram observadas diferenças significativas (p < 0,05) entre diversas variedades de maçãs, para todas as frações estudadas (Tabela 3.12). A maçã *Branca* sobressaiu na análise por evidenciar uma concentração de carotenóides consideravelmente superior a todas as restantes cultivares, no que concerne ao fruto inteiro e à fração casca. O mesmo foi apurado para a fração polpa, com exceção da variedade *Camoesa da Azoia*, para a qual a diferença não pôde ser considerada significativa (p > 0,05).

Comparando a proveniência dos frutos constatou-se que, no que diz respeito à casca, a variedade do Minho (*Porta da Loja*) demonstrou possuir um teor de carotenóides significativamente superior ($p < 0,05$) ao das variedades de Alcobaça, de Viseu e de Torres Vedras, mas não em relação às cultivares de Sesimbra (Tabela 3.12). Na fração polpa e no fruto inteiro observou-se algo semelhante, muito embora neste caso tenham sido as variedades de Sesimbra a evidenciarem um teor médio de carotenóides substancialmente superior ao dos restantes grupos citados, com exceção da variedade *Porta da Loja* (Minho), para a qual não foram encontradas diferenças estatisticamente relevantes ($p > 0,05$).

Tabela 3.12. Teor de carotenóides totais segundo a proveniência geográfica das maçãs.

Origem Geográfica	Carotenóides Totais ($\mu/100$ g PF)		
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro
Minho	79,04 ^{bc}	737,46 ^c	146,50 ^{bc}
Viseu	58,99 ^{ab}	327,35 ^{ab}	88,25 ^{ab}
Alcobaça	23,86 ^a	185,61 ^a	37,75 ^a
Torres Vedras	78,74 ^{abc}	259,10 ^a	96,71 ^{ab}
Sesimbra	129,60 ^c	622,52 ^{bc}	181,50 ^c
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).			

3.3.4. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos vários extratos de maçãs foi medida pelos métodos DPPH e FRAP e os resultados são analisados de seguida. Estes métodos foram selecionados por serem métodos utilizados muito frequentemente para avaliar a atividade antioxidante e por fornecerem informações complementares sobre esta propriedade. Enquanto o método FRAP avalia o poder redutor de moléculas capazes de doar eletrões a componentes oxidados do reagente FRAP, a reação de sequestração do DPPH avalia a capacidade de transferir um eletrão e um protão para este radical. De entre as moléculas antioxidantes algumas têm a capacidade de atuar segundo um destes mecanismos, outras segundo ambos.

3.3.4.1. DPPH

A atividade antirradicalar de neutralização do radical DPPH foi avaliada na casca, polpa e fruto inteiro, para as 17 variedades de maçãs incluídas neste trabalho, e verificou-se que a casca apresentou valores superiores aos registados para a polpa (Figura 3.10), como seria expectável tendo em consideração os resultados obtidos anteriormente para fenólicos totais e carotenóides totais.

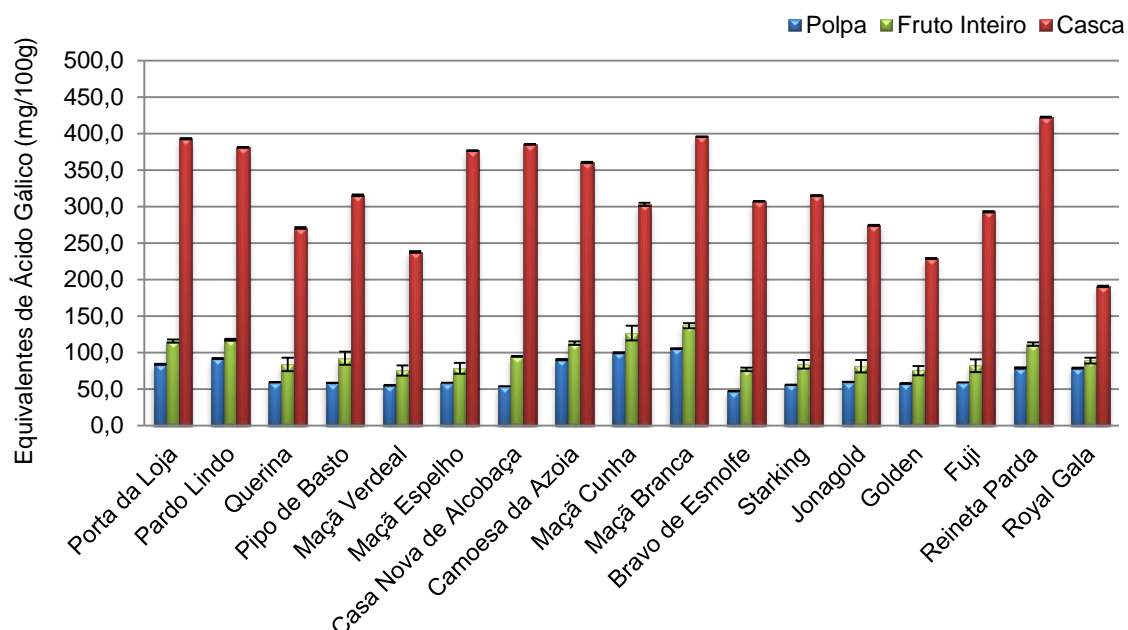


Figura 3.10. Atividade antioxidante (DPPH) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas de variedades exóticas e tradicionais.

Os valores de atividade antirradicalar oscilaram entre $47,27 \pm 0,17$ (*Bravo de Esmolfe*) e $105,75 \pm 0,22$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF na polpa, entre $190,92 \pm 4,12$ (*Royal Gala*) e $422,64 \pm 2,38$ (*Reineta Parda*) mg GAE/100 g PF na casca, e entre $75,30 \pm 0,56$ (*Golden Delicious*) e $137,06 \pm 0,19$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF no fruto inteiro (Tabela 3.13). Os dados referidos na literatura divergem acentuadamente entre si, sobretudo porque utilizam padrões diferentes, o que torna difícil estabelecer uma comparação. Petkovšek *et al.* (2007) reporta valores entre 23,6 e 44,6 mg AEAC/100 g PF para a polpa, valores muito distantes dos apresentados por Vieira *et al.* (2011) para a mesma fração (86,7 a 223,1 mg TEAC/100 g PF). No caso da casca, os valores apresentados por estes autores mostram-se também bastante distintos, entre 82,9 e 178,1 mg AEAC/100 g PF (Petkovšek *et al.*, 2007) e 251,3 e 970,6 mg TEAC/100 g PF (Vieira *et al.*, 2011). Yuri *et al.* (2009) reporta valores médios de 50 mg CAE/100 g PF para a polpa, e entre 227 a 896 mg CAE/100 g PF para a casca. Outros estudos apresentam também grandes variações (Carbone *et al.*, 2011; Drogoudi *et al.*, 2008; Chinnici *et al.*, 2004b).

Tabela 3.13. Atividade antirradicalar (DPPH) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

mg GAE/100 g de peso fresco				Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾	
Variedades	Polpa	Casca	Fruto (polpa +casca)		
TRADICIONAIS	Porta da Loja	84,24 ± 0,73 ^h	393,3 ± 2,06 ^f	115,96 ± 0,87 ^{gh}	4,7
	Pardo Lindo	91,85 ± 0,65 ⁱ	381,37 ± 1,31 ^{ef}	117,64 ± 0,48 ^h	4,2
	Querina	59,39 ± 0,18 ^{ef}	271,08 ± 9,15 ^c	83,79 ± 1,21 ^c	4,6
	Pipo de Basto	58,71 ± 0,24 ^{ef}	315,79 ± 9,01 ^d	92,33 ± 0,97 ^{de}	5,4
	Maçã Verdeal	55,28 ± 0,31 ^{bc}	238,15 ± 6,99 ^b	75,55 ± 1,05 ^a	4,3
	Maçã Espelho	58,72 ± 0,01 ^{ef}	376,85 ± 7,48 ^{ef}	78,69 ± 0,46 ^{ab}	6,4
	Casa Nova de Alcobaça	54,08 ± 0,10 ^b	385,49 ± 0,33 ^f	94,88 ± 0,13 ^e	7,1
	Camoesa da Azoia	90,42 ± 0,86 ⁱ	360,64 ± 2,24 ^e	113,04 ± 0,97 ^{fg}	4,0
	Maçã Cunha	99,92 ± 0,83 ^j	303,29 ± 10,11 ^d	126,81 ± 2,05 ⁱ	3,0
	Maçã Branca	105,75 ± 0,22 ^k	395,96 ± 3,61 ^f	137,06 ± 0,19 ^j	3,7
	Bravo de Esmolfe	47,27 ± 0,17 ^a	307,50 ± 2,43 ^d	76,94 ± 0,12 ^a	6,5
	Média	73,24 ± 0,39	339,04 ± 4,97	101,15 ± 0,77	4,9
EXTÓTICAS	Starking	56,06 ± 0,11 ^{cd}	315,20 ± 5,84 ^d	84,17 ± 0,73 ^c	5,6
	Jonagold	59,87 ± 0,14 ^f	274,43 ± 8,49 ^c	81,55 ± 0,73 ^{bc}	4,6
	Golden Delicious	57,86 ± 0,11 ^{de}	229,15 ± 6,53 ^b	75,30 ± 0,56 ^a	4,0
	Fuji	59,46 ± 0,06 ^{ef}	293,22 ± 8,74 ^{cd}	82,22 ± 0,80 ^{bc}	4,9
	Reineta Parda	79,05 ± 0,95 ^g	422,64 ± 2,38 ^g	111,82 ± 0,63 ^f	5,3
	Royal Gala	78,87 ± 0,64 ^g	190,92 ± 4,12 ^a	89,16 ± 0,96 ^d	2,4
	Média	65,20 ± 0,34	287,59 ± 6,02	87,37 ± 0,74	4,5

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

A atividade antirradicalar mostrou ser entre 2,4 (*Royal Gala*) e 7,1 (*Casa Nova de Alcobaça*) vezes maior na casca do que na polpa, o que está de acordo com dados reportados em estudos anteriores (Chinnici *et al.*, 2004b: 2,5 vezes; Vieira *et al.*, 2011: entre 2,9 e 4,4 vezes; Petkovšek *et al.*, 2007: entre 2 e 5 vezes; Drogoudi *et al.*, 2008: entre 1,5 e 9,2 vezes). Este facto demonstra a importância do consumo do fruto com casca. Apesar de a casca representar em média apenas entre 5,9% a 12,5% do peso fresco da maçã – dependendo da variedade avaliada –, dado que o teor de fenólicos e de carotenóides é mais elevado na casca do que na polpa, o consumo de maçãs com casca acaba por influenciar positivamente a quantidade destes compostos que é ingerida e, como tal, a sua atividade antirradicalar. A maçã *Casa Nova de Alcobaça* é um bom exemplo. A polpa do fruto mostrou uma atividade antirradicalar muito modesta, superior apenas à registada pela variedade *Royal Gala*. No entanto, os resultados apurados para o fruto inteiro revelaram-se muito mais importantes, beneficiando da elevada atividade antirradicalar da casca.

Em termos estatísticos a *Maçã Branca* destacou-se por ter revelado uma atividade antirradicalar significativamente superior (p < 0,05) a todas as restantes variedades estudadas,

quer no que respeita à porção polpa, quer no fruto inteiro (Tabela 3.13). Já na fração casca, a variedade *Reineta Parda* foi a que mais se destacou, demonstrando possuir uma atividade antirradicalar significativamente superior a todas as demais variedades. Isolando a *Reineta Parda* do grupo das exóticas, foi possível apurar que, no caso da fração casca, existe uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre esta e a média das restantes variedades exóticas, provando-se existir maior afinidade em relação às cultivares tradicionais. Não foram, no entanto, encontradas variações significativas entre a fração polpa e o fruto inteiro. Comparando a proveniência dos frutos, verificou-se que, no caso da polpa e do fruto inteiro, as variedades de Sesimbra demonstraram possuir uma atividade antirradicalar significativamente superior às cultivares de Alcobaça, de Torres Vedras e de Viseu. Relativamente à casca, só foram encontradas diferenças significativas entre os grupos das diversas proveniências, quando se isolou a *Reineta Parda* do grupo das variedades de Torres Vedras, o que mostra que a atividade antirradicalar está fortemente dependente da variedade.

3.3.4.2. FRAP

A atividade férrica medida através do método FRAP, também mostrou grandes diferenças entre as porções polpa e casca (Figura 3.11).

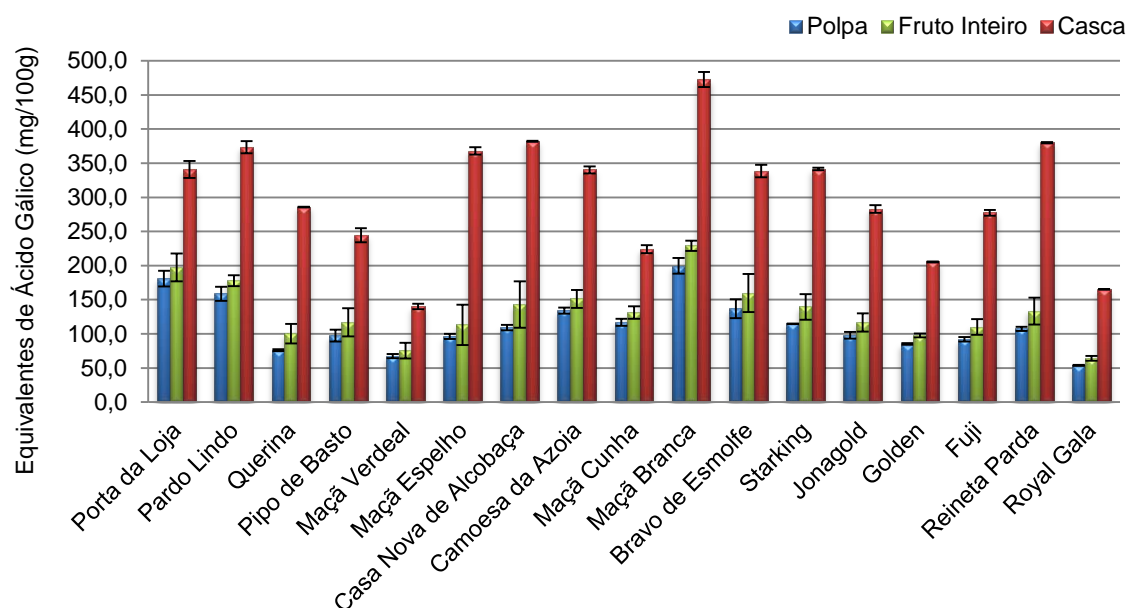


Figura 3.11. Atividade antioxidante (FRAP) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs portuguesas.

A atividade antioxidante relacionada com a redução do complexo Fe^{3+} -TPTZ à forma ferrosa Fe^{2+} mostrou que, tal como foi discutido para a redução do radical DPPH, a especificidade relacionada com a variedade da maçã determina de forma substancial as oscilações

constatadas. Os valores variaram entre $53,80 \pm 0,81$ (*Royal Gala*) e $199,50 \pm 11,43$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF, na polpa, entre $140,04 \pm 11,55$ (*Maçã Verdeal*) e $472,61 \pm 7,51$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF, na casca, e entre $64,01 \pm 0,42$ (*Royal Gala*) e $228,97 \pm 11,01$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF (Tabela 3.14), no fruto inteiro. Os resultados estão consistentes com outros estudos, que indicaram valores na polpa entre 32,3 e 124,6 mg AEAC/100 g PF (Khanizadeh *et al.*, 2008) e entre 35,1 e 65,5 mg TEAC/100 g PF (Vieira *et al.*, 2011), e na casca entre 74,5 e 451,9 mg AEAC/100 g PF (Khanizadeh *et al.*, 2008) e entre 130,3 e 290,5 mg TEAC/100 g PF (Vieira *et al.*, 2011).

Tabela 3.14. Atividade de redução férrica (FRAP) de polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

mg GAE/100 g de peso fresco					Relação Casca/Polpa ⁽¹⁾
Variedades	Polpa	Casca	Fruto (polpa +casca)		
TRADICIONAIS	Porta da Loja	180,93 ± 11,57 ^{ij}	340,73 ± 20,52 ^{ef}	197,33 ± 12,48 ⁱ	1,9
	Pardo Lindo	158,65 ± 10,52 ^{hi}	373,59 ± 7,92 ^f	177,80 ± 8,88 ^{hi}	2,4
	Querina	76,06 ± 1,43 ^{abc}	285,73 ± 14,34 ^{de}	100,23 ± 0,39 ^{bc}	3,8
	Pipo de Basto	97,57 ± 8,61 ^{cde}	244,54 ± 20,72 ^{cd}	116,79 ± 10,19 ^{cde}	2,5
	Maçã Verdeal	67,32 ± 2,99 ^{ab}	140,04 ± 11,55^a	75,39 ± 3,94 ^{ab}	2,1
	Maçã Espelho	96,14 ± 3,77 ^{cde}	367,83 ± 29,43 ^f	113,20 ± 5,38 ^{cd}	3,8
	Casa Nova de Alcobaça	109,22 ± 4,07 ^{def}	382,13 ± 33,93 ^f	142,82 ± 0,61 ^{fg}	3,5
	Camoesa da Azoia	134,02 ± 4,46 ^{fgh}	340,08 ± 13,12 ^{ef}	151,27 ± 5,18 ^{fg}	2,5
	Maçã Cunha	116,90 ± 5,32 ^{efg}	224,02 ± 9,06 ^{bcd}	131,06 ± 5,81 ^{def}	1,9
	Maçã Branca	199,50 ± 11,43^j	472,61 ± 7,51^g	228,97 ± 11,01^j	2,4
	Bravo de Esmolfe	136,86 ± 13,95 ^{gh}	338,37 ± 28,06 ^{ef}	159,84 ± 9,16 ^{gh}	2,5
Média	124,83 ± 7,10	319,06 ± 17,83	144,97 ± 6,64	2,7	
EXTÓTICAS	Starking	114,76 ± 0,23 ^{efg}	341,61 ± 18,60 ^{ef}	139,37 ± 1,82 ^{efg}	3,0
	Jonagold	97,96 ± 4,93 ^{cde}	282,87 ± 13,44 ^{de}	116,64 ± 5,79 ^{cde}	2,9
	Golden Delicious	85,25 ± 1,06 ^{bcd}	205,35 ± 2,82 ^{abc}	97,48 ± 0,67 ^{bc}	2,4
	Fuji	91,98 ± 3,45 ^{bode}	277,21 ± 11,54 ^{de}	110,02 ± 4,24 ^{cd}	3,0
	Reineta Parda	107,33 ± 3,06 ^{def}	379,95 ± 19,84 ^f	133,33 ± 0,88 ^{def}	3,5
	Royal Gala	53,80 ± 0,81^a	165,02 ± 3,52 ^{ab}	64,01 ± 0,42^a	3,1
Média	91,85 ± 2,26	275,33 ± 11,63	110,14 ± 2,30	3,0	

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05).

(1) Valor obtido através da divisão da concentração na casca pelo conteúdo na polpa.
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A atividade redutora determinada através do método FRAP mostrou ser em média superior nas variedades tradicionais. Das 17 variedades estudadas, as seis que apresentaram atividade redutora mais relevante são todas elas cultivares tradicionais (*Maçã Branca*, *Porta da Loja*, *Pardo Lindo*, *Bravo de Esmolfe*, *Camoesa da Azoia* e *Casa Nova de Alcobaça*). A *Maçã Branca* mostrou possuir uma atividade redutora muito elevada e destacada das restantes, podendo ser conotada estatisticamente como significativamente superior ($p < 0,05$) às demais variedades

em todas as porções do fruto analisadas, com exceção da polpa da cultivar *Porta da Loja*, para a qual não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$). Isolando a variedade *Reineta Parda*, foi possível identificar uma semelhança estatisticamente relevante ($p < 0,05$) no fruto inteiro, em relação à média das variedades tradicionais, e uma diferença significativa comparativamente à média das restantes cultivares exóticas. Não foram encontradas diferenças significativas nas frações polpa e casca.

Comparando a proveniência geográfica, constatou-se que a polpa da variedade *Porta da Loja*, com origem da região do Minho, demonstrou possuir uma atividade redutora consideravelmente mais elevada ($p < 0,05$) do que a polpa das variedades de Torres Vedras, de Viseu e de Alcobaça. A média das atividades redutoras das variedades de Sesimbra foi também significativamente superior às médias das cultivares de Torres Vedras e de Viseu. Já no fruto inteiro, só foram identificadas diferenças significativas entre a variedade do Minho e as de Sesimbra, relativamente às cultivares de Torres Vedras. Na fração casca não se encontraram relações estatisticamente distintas entre as diversas proveniências. Quanto à relação entre a casca e a polpa, os valores apurados mostram que a atividade redutora é entre 1,9 e 3,8 vezes mais elevada na casca do que na polpa, o que está de acordo com trabalhos anteriores (Vieira *et al.*, 2011: 3,7 a 4,4 vezes; Khanizadeh *et al.*, 2008: 3,6 a 5,4 vezes).

3.4. CONCLUSÕES

A maçã é, de entre os frutos mais consumidos em Portugal, aquele que evidencia maior concentração de polifenóis e que revela uma atividade antioxidante mais intensa (Sun *et al.*, 2002). O estudo aqui apresentado mostra que a casca possui entre 2,1 e 4,0 vezes mais fenólicos – entre $155,83 \pm 4,98$ mg GAE/100 g PF (*Maçã Verdeal*) e $495,35 \pm 8,17$ mg GAE/100 g PF (*Reineta Parda*) –, do que a polpa – $62,03 \pm 5,18$ mg GAE/100 g PF (*Royal Gala*) e $179,30 \pm 0,29$ mg GAE/100 g PF (*Pardo Lindo*). Em média, as variedades tradicionais exibiram um teor de compostos fenólicos e, também, uma atividade antioxidante mais elevada do que o das exóticas, nas diversas frações analisadas (polpa, casca e fruto inteiro).

Tal como os compostos fenólicos, os carotenóides constituem uma fonte natural de antioxidantes, que apesar de não ocorrerem em grande quantidade em maçãs, parecem contribuir para a atividade antioxidante demonstrada pelo fruto (Setiawan *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2009). É também na casca que os carotenóides se concentram em maior quantidade: $140,28 \pm 35,80$ (*Starking*) mg GAE/100 g PF e $952,12 \pm 4,71$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF. Os valores apurados na polpa oscilaram entre $23,24 \pm 4,20$ (*Maçã Espelho*) mg GAE/100 g PF e $167,97 \pm 9,10$ (*Maçã Branca*) mg GAE/100 g PF. A *Maçã Branca* e também a *Maçã Camoesa da Azoia*, variedades circunscritas à região de Sesimbra, mostraram ser cultivares com um elevado teor de carotenóides, que se destacam de todas as restantes maçãs estudadas. Em média, a polpa das maçãs exóticas mostrou exibir uma quantidade mais elevada de carotenóides do que as variedades tradicionais, que, por sua vez, evidenciaram o inverso no que respeita à casca e ao fruto inteiro.

Em relação à atividade antirradicalar e redutora, os dados apurados expõem algumas diferenças entre as duas metodologias utilizadas (DPPH e FRAP), muito embora ambas tenham evidenciado que é na casca que se concentram grande parte dos compostos que contribuem para esta atividade.

A atividade antirradicalar (DPPH) da polpa oscilou entre $47,27 \pm 0,17$ mg GAE/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) e $105,75 \pm 0,22$ mg GAE/100 g PF (*Maçã Branca*), enquanto a atividade redutora (FRAP) variou entre $53,80 \pm 0,81$ mg GAE/100 g PF (*Royal Gala*) e $199,50 \pm 11,43$ mg GAE/100 g PF (*Maçã Branca*). Na casca, a atividade antirradicalar (DPPH) oscilou entre $190,92 \pm 4,12$ mg GAE/100 g PF (*Royal Gala*) e $422,64 \pm 2,38$ mg GAE/100 g PF (*Reineta Parda*), enquanto para a atividade antioxidante se registaram valores entre $140,04 \pm 11,55$ mg GAE/100 g PF (*Maçã Verdeal*) e $472,61 \pm 7,51$ mg GAE/100 g PF (*Maçã Branca*). A este respeito constatou-se que, se por um lado algumas variedades apresentaram uma atividade antioxidante muito semelhante em ambos os métodos (DPPH e FRAP), outras, da qual se destaca a variedade *Bravo de Esmolfe*, mostraram grandes diferenças, que poderão estar relacionadas com interferências exibidas por alguns compostos, nomeadamente carotenóides

(Prior *et al.*, 2005). De uma forma geral, e tendo por base o fruto inteiro (polpa + casca), a *Maçã Branca* foi a variedade que mais se destacou em ambas as técnicas (DPPH e FRAP), por ter evidenciado uma atividade antioxidante significativamente mais elevada ($p < 0,05$) a todas as restantes cultivares, o que está de acordo com o elevado teor de fenólicos e de carotenóides que também evidenciou.

Estes resultados são muito interessantes e podem revelar-se de grande importância na divulgação da *Maçã Branca*, uma variedade em risco de extinção e sobre a qual não existia até ao momento qualquer estudo. É preciso alargar o conhecimento em torno desta variedade que se destaca, sobretudo, pela elevada atividade antioxidante que evidencia.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida, D. P. F., & Pintado, M. (2007). Caracterização nutritiva e funcional de variedades de maçã de Alcobaça. Relatório preparado para a Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça. Centro de Biotecnologia e Química Fina, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto.
2. Anovitz-Klapp, A., Richard, F., Goupy, P. & Nicolas, J. (1990). Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38(4):926-931.
3. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70–76.
4. Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E., & Bohn, T. (2010). Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 75(1):C55-C61, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01417.x.
5. Boyer, J., & Liu, R. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3:1-15, doi: 10.1186/1475-2891-3-5.
6. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
7. Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Savatović, S., Mandić, A., & Tumbas, V. (2008). Assessment of polyphenolic content and *in vitro* antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347, doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.046.
8. Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(suppl):223S-229S.
9. Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004b). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:4684-4689.
10. Cieřlik, E., Greda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 94:135-142, doi:10.1016/j.foodchem.2004.11.015.
11. Collins, A. (2005). Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *European Journal of Cancer*, 41:1923-1930, doi: 10.1016/j.ejca.2005.06.004.
12. D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A., (2007). "Limoncella" Apple, an Italian Apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104:1333-1337, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.073.

13. Dias, M.G., Camões, M., & Oliveira, L. (2009). Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113:808-815, doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.002.
14. Drogoudi, P., Michailidis, Z., & Pantelidis, G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115:149-153, doi: 10.1016/j.scienta.2007.08.010.
15. Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., & Liu, R.H. (2000). Nutrition: antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405:903–904.
16. El-Shimi, N. (1993). Controlo of enzymatic browning in Apple slices by using ascorbic acid under different conditions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 43:71-76.
17. Feliciano, R., Antunes C., Ramos, A., Serra, A., Figueira, M., Duarte, C., Carvalho, A., & Bronze, M. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods*, 2:35-45, doi: 10.1016/j.jff.2009.12.004.
18. Feskanich, D., Ziegler, R., Michaud, D., Giovannucci, E., Speizer, F., Willett, W., & Colditz, A. (2000). Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:1812-1823.
19. García, Y. D., Valles, B. S., & Lobo, A. P. (2009). Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry* 117:731–738, doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.049.
20. Gerhauser, C. (2008). Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. *Planta Med*, 74:1608-1624, doi: 10.1055/s-0028-1088300.
21. Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92:521-525, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.08.020.
22. Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23:1719-1726, doi:10.1016/j.nutres.2003.08.005.
23. Halvorsen, B., Holte, K., Myhrstad, M., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S., Wold, A., Haffner, K., Baugerød, Andersen, L., Moskaug, J., Jacobs, D., & Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*, 132:461-471.
24. Haminiuk, C., Maciel, G., Plata-Oviedo, M., & Peralta, R. (2012). Phenolic compounds in fruits – An overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10):2023-2044, doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x.

25. Hart, D., & Scott, J. (1995). Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54:101-111.
26. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of *Tunisian quercuscoccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3):1126-1134, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.02.010.
27. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572-584.
28. Hertog, M., Feskens, E., Hollman, P., Katan, M., & Kromhout, D. (1994). Dietary flavonoids and cancer risk in the Zutphen elderly study. *Nutrition and Cancer*, 22(2):175-184.
29. Hung, H.C., Joshipura, K., Jiang, R., Hu, F., Hunter, D., Smith-Warner, S., Colditz, G., Rosner, B., Spiegelman, D., & Willet, W. (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(21):1577-1584, doi: 10.1093/jnci/djh296.
30. Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:6301-6306.
31. Joshipura, K., H., F., Manson, J., Stampfer, M., Rimm, E., Speizer, F., Colditz, G., Ascherio, A., Rosner, B., Spiegelman, D., & Willet, W. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of Internal Medicine*, 134(12): 1106-1114.
32. Kahle, K., Huemmer, W., Kempf, M., Scheppach, W., Erk, T., & Richling E. (2007). Polyphenols are intensively metabolized in the human gastrointestinal tract after apple juice consumption. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:10605-10614.
33. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., & DeEll, J. (2007b). Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(1):61-66, ISSN: 1459-0255.
34. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.
35. Kidmose, U., Knuthsen, P., Edelenbos, M., Justesen, U., & Hegelund, E. (2001). Carotenoids and flavonoids in organically grown spinach (*Spinacia oleracea* L) genotypes

- after deep frozen storage. *Journal of Science and Food Agriculture*, 81:918-923, doi: 10.1002/jsfa.902.
36. Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50:3713-3717.
37. Kim, Y., Giraud, D., & Driskell, J. (2007). Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20:458-465, doi: 10.1016/j.jfca.2007.02.001.
38. Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Heliövaara, M., Teppo, L., Pukkala, E., & Aromaa, A. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of epidemiology*, 146:223-230.
39. Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., & Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76:560-568.
40. Łata, B., Przeradzka, M., & Bińkowska, M. (2005a). Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:8970-8978, doi: 10.1021/jf051503x.
41. Łata, B. (2007a). Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:663-671, doi: 10.1021/jf062664j.
42. Łata, B., Tomala, K. (2007b). Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds. Cultivar and Year Implication. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(26):10795–10802, doi: 10.1021/jf072035p.
43. Łata, B., Trampczynska, B., & Paczesna, J. (2009). Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121:176–181, doi: 10.1016/j.scienta.2009.01.038.
44. Lee, K., Kim, Y., Kim, D., Lee, H., & Lee, C. (2003). Major phenolics in Apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:6516-6520.
45. Linseisen, J., Rohrmann, S., Miller, A., Bueno-de-Mesquita, H., Büchner, F., Vineis, P., Agudo, A., Gram, I., Janson, L., Krogh, V., Overvad, K., Rasmussen, T., Schulz, M., Pischon, T., Kaaks, R., Nieter, A., Allen, N., Key, T., Bingham, S., Khaw, K., Amiano, P., Barricarte, A., Martinez, C., Navarro, C., Quirós, R., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M., Touvier, M., Peeters, P., Berglund, G., Hallmans, G., Lund, E., Palli, D., Panico, S., Tumino, R., Tjønneland, A., Olsen, A., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Autier, P., Boffeta, P., Slimani, N., & Riboli, E. (2007). Fruit and vegetable consumption and lung cancer risk: Updated information from the European Prospective Investigation into

- Cancer and Nutrition (EPIC). International Journal of Cancer, 121:1103-1114, doi: 10.1002/ijc.22807.
46. Liu, R. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. American Journal of Clinical Nutrition, 78(suppl):517S-520S.
 47. Lu, Y., & Foo, L. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chemistry, 68:81-85.
 48. Marchand, L., Murphy, S., Hankin, J., Wilkens, L., & Kolonel, L. (2000). Intake of flavonoids and lung cancer. Journal of the National Cancer Institute, 92:154-160.
 49. Mari, A., Tedesco, I., Nappo, A., Russo, G., Malorni, A., & Carbone V. (2010). Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” Apple, a southern Italian cultivar. Food Chemistry, 123:157-164, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.023.
 50. Michiels, J. A., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommès, J. (2012). Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. Food Chemistry, 130(4):986-993, doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.117.
 51. Mustafa, R.A., Humid, A., Mohamed, S., & Abu Bakar, F. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. Journal of Food Science, 75(1):C28-C35, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01401.x.
 52. Pearson, D., Tan, C., German, J., Davis, P., & Gershwin, M. (1999). Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. Life Sciences, 64(21):1913-1920.
 53. Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. Food Chemistry, 97:137-150, doi: 10.1016/f.foodchem.2005.03.033.
 54. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). Scientia Horticulturae, 114:37-44, doi: 10.1016/j.scienta.2007.05.004.
 55. Podsędek, A., Wilska-Jeszka, J., Anders B., & Markowski, J. (2000). Compositional characterisation of some apple varieties. European Food Research and Technology, 2010:268-272.
 56. Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53:4290-4302.
 57. Queji, M. D., Wosiacki, G., Cordeiro, G. A., Peralta-Zamora, P. G., & Nagata, N. (2010). Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple

- pomace by infrared spectroscopy and PLSR. *International Journal of Food Science and Technology*, 45:602–609, doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02173.x.
58. Roura, E., Andrés-Lacueva, C., Estruch, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (2006). Total polyphenol intake estimated by a modified folin-ciocalteu assay of urine. *Clinical Chemistry*, 52(4):749-752, doi: 10.1373/clinchem.2005.063628.
59. Salgado, J., Curte, F., & Mansi, N. (2008). Effect of gala apples (*Malus domestica* Borkh) on lipidemia of hyperlipedemic rats. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(2):477-484, ISSN 0101-2061.
60. Serra, A., Matias, A., Frade, R., Duarte, R., Feliciano, R., Bronze, M., Figueira, M., Carvalho, A., & Duarte, C. (2010a). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2 – Antioxidant and antiproliferative activities. *Journal of Functional Foods*, 2:46-53, doi: 10.1016/j.jff.2009.12.005.
61. Serra, A. (2010b). Valorization of traditional portuguese apples and cherries. Dissertation presented to obtain a Ph.D degree in Engineering and Technology Sciences, Biotechnology at the Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa.
62. Setiawan, B., Sulaeman, A., Giraud, D., & Driskell, J. (2001). Carotenoid content of selected Indonesian Fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14:169-176.
63. Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Vitiviniculture*, 16:144-158.
64. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299:152-178.
65. Soares, M., Werter, L., Gonzaga, L., Lima, A., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2008). Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(3):727-732, ISSN 0101-2061.
66. Spanos, A., & Wrolstad, E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:1478-1487.
67. Stratil, P., Klejdus, B., & Kubáň, V. (2007). Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71:1741-1751.
68. Suárez, B., Álvarez, A., García, Y., Barrio, G., Lobo A. & Parra, F. (2010). Phenolic profiles, antioxidant activity and *in vitro* antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry*, 120:339-342, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.073.

69. Suárez, B., Álvarez, A., García, Y., Barrio, G., Lobo A. & Parra, F. (2010). Phenolic profiles, antioxidant activity and *in vitro* antiviral properties of apple pomace. Food Chemistry, 120:339-342, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.073.
70. Sun, J., Chu, Y., Wu, X., & Liu, R. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50:7449-7454.
71. Temple, N., & Gladwin, K. (2003). Fruit, vegetables, and the prevention of cancer: research challenges. Nutrition, 19:467-470.
72. Toothaker, L. (1993). Multiple Comparison Procedures, University of Oklahoma Health Sciences Center, Sage Publications, Inc. ISBN: 9780803941779, 96 pp.
73. Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., & Khanizadeh, S. (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? Journal of Agriculture and Food Chemistry. 53:4989-4995, doi: 10.1021/jf048289h.
74. USDA - U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2011). USDA - National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory Home Page, in <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.
75. Van der Sluis, A., Dekker, M., Jager, A., & Jogen, W. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49:3606-3613, doi: 10.1021/jf001493u.
76. Vanzani, P., Rossetto, M., Rigo, A., Vrhovsek, U., Mattivi, F., D'Amato, E., & Scarpa, M. (2005). Major phytochemicals in apple cultivars: Contribution to peroxyl radical trapping efficiency. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53:3377-3382.
77. Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85:1687-1694, doi: 10.1002/jsfa.2113.
78. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Amboni, R., Denardi F., & Fett, R. (2009). Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. Scientia Horticulturae, 122:421-425, doi: 10.1016/j.scienta.2009.06.012.
79. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Pietro, P., Nunes, E., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. Scientia Horticulturae, 128:261-266, doi: 10.1016/j.scienta.2011.01.032.
80. Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. & Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 52:6532-6538.

81. W.C.R.F./A.I.C.R. (2007). Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. London. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research.
82. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:6520-6530.
83. Wolfe, K. L., Wu, X., & Liu, R. H. (2003a). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:609-614, doi: 10.1021/jf020782a.
84. Wolfe, K. L., & Liu, R. H. (2003b). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:1676-1683, doi: 10.1021/jf025916z.
85. Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62(6):1201-1204.
86. Yuri, J., Neira, A., Quilodran, A., Motomura, Y., & Palomo, I. (2009). Antioxidant activity and total phenolics concentration in Apple peel and flesh is determined by cultivar and agroclimatic growing regions in Chile. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(3&4):513-517.



CAPÍTULO 4

Perfil de Compostos Fenólicos por HPLC-DAD

- Perfil de fenólicos por HPLC-DAD
- Quantificação de fenólicos por HPLC-DAD

4.1. INTRODUÇÃO

4.1.1. Perfis e quantificação de fenólicos

As maçãs possuem um número muito elevado e diverso de polifenóis, que no seu total representam cerca de 200 mg/100 g do peso fresco do fruto (Kahle *et al.*, 2005a). Os compostos fenólicos podem ser divididos em cinco grupos estruturais: ácidos hidroxibenzóicos (principalmente ácido protocatecuico); ácidos hidroxicinâmicos (essencialmente ácidos clorogénico e cafeico); flavanóis (incluem a (+)-catequina e a (-)-epicatequina, mas também proantocininas como as procinidinas B2 e B1); flavonóis (sobretudo diferentes glicosídeos de quercetina); dihidrochalconas (principalmente floridzina e glicosídeos de floretina) e antocianinas (predominantemente glicosídeos de cianidina) (Figura 4.1) (Łata *et al.*, 2009; Mari *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2008; He & Liu, 2008; Mullen *et al.*, 2007; Marks *et al.*, 2007; Vanzani *et al.*, 2005; Chinnici *et al.*, 2004a; Golding *et al.*, 2001). A complexidade do perfil de fenólicos advém em grande medida da polimerização dos flavano-3-óis e da glicosilação de outros polifenóis, sobretudo devido à presença de açúcares como galactose, glucose, ramnose, arabionose, xilose e rutinose (Tsao *et al.*, 2005; Ross & Kasum, 2002).

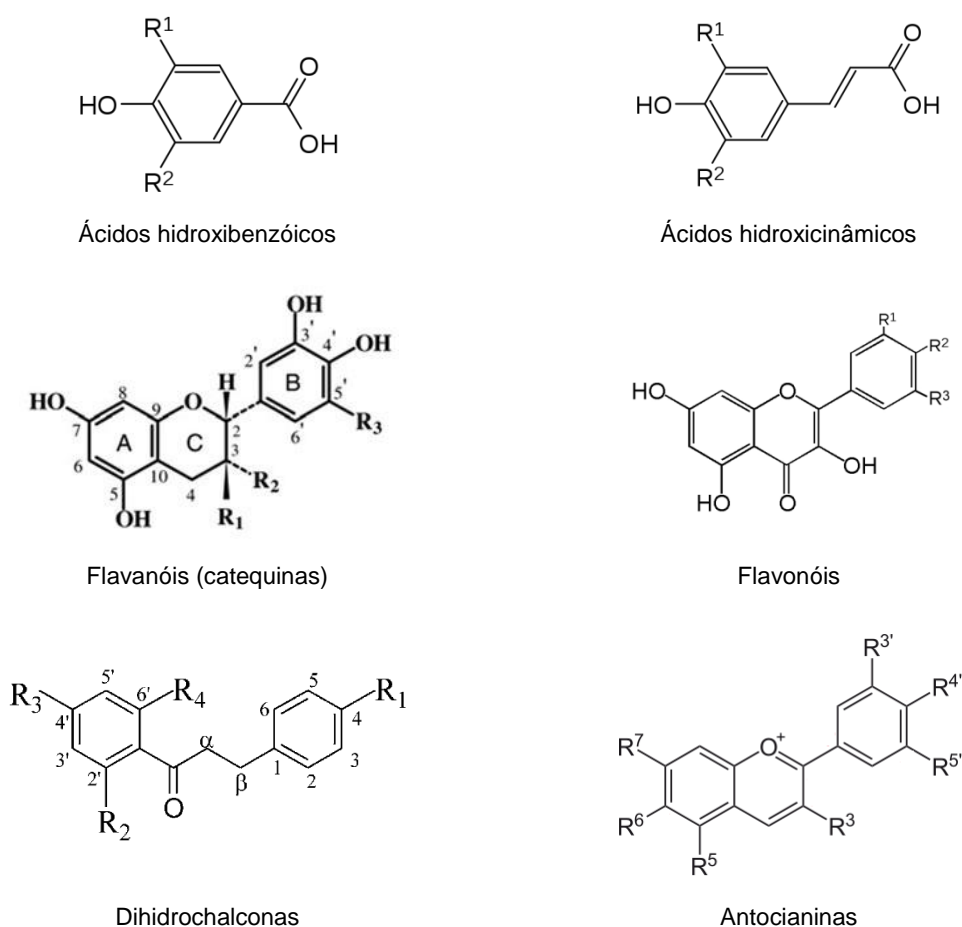


Figura 4.1. Estrutura das principais classes de fenólicos (<http://www.sigmaaldrich.com>).

A distribuição qualitativa e quantitativa destes compostos varia entre diferentes variedades de maçãs e entre as porções polpa e casca (McGhie *et al.*, 2005; Chinnici *et al.*, 2004b; Escarpa & González, 2001), sendo que o seu teor é maior na casca do que na polpa (Carbone *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2011; Khanizadeh *et al.*, 2008; D'Abrosca *et al.*, 2007; Almeida & Pintado, 2007; Wolfe *et al.*, 2003a; Huber *et al.*, 2009; Eberhardt *et al.*, 2000; Burda *et al.*, 1990).

Porém, alguns estudos indicam que o teor de alguns compostos fenólicos, como por exemplo ácido clorogénico, catequina, epicatequina ou procianidinas B1 e B2, pode ser mais elevado na polpa do que na casca das maçãs, tanto em estágios de desenvolvimento mais precoces como em estados de maturação mais avançados destes frutos (Zhang *et al.*, 2010, Hagen *et al.*, 2007, Kondo *et al.*, 2002). Segundo Łata e colaboradores, os fenólicos totais presentes na casca das maçãs são sobretudo flavano-3-óis monoméricos e poliméricos (60%), seguido por flavonóis (18%), ácidos hidrocínânicos (9%), dihidrochalconas (8%) e antocianinas (5%); enquanto a polpa é constituída por 56% de procianidinas, 40% de ácidos hidrocínânicos e 4% de dihidrochalconas (Łata *et al.*, 2009). Alonso-Salces e colaboradores efetuaram um estudo que envolveu 31 variedades de maçãs e concluíram que os flavanóis constituem a classe mais representativa de polifenóis na casca (> 70%), seguido dos flavonóis (6%-13%); enquanto a polpa é constituída por 63%-94% de flavanóis, 4%-33% de ácidos hidroxicinâmicos, 0,4%-6,1% de dihidrochalconas e <0,4% de flavonóis (Alonso-Salces *et al.*, 2004).

Já Wojdyło e co-autores (Wojdyło *et al.*, 2008), afirmam que as procianidinas, com especial relevância para as procianidinas B2 e C1, são o grupo mais representativo dos componentes fenólicos das maçãs (fruto inteiro), representando mais de 80% do total de polifenóis, seguido dos grupos: ácidos hidroxinâmicos (1,2%-31,2%) (sobretudo ácido 5-cafeoilquinico e ácido p-cumaroilquinico), dihidrochalconas (0,5%-4,9%) (essencialmente floretina-2-O-glucosídeo e floretina-2-O-xiloglicosídeo), flavonóis (0,8%-16,9%) (particularmente quercetina-3-galactosídeo e quercetina-3-ramnosídeo) e antocianinas (<1%) (como a cianidina-3-galactosídeo e a cianidina-3-glucosídeo). Vrhovsek e colaboradores apresentam resultados semelhantes, indicando o grupo dos flavanóis como o mais expressivo (71%-91% do total de polifenóis) – essencialmente devido a catequinas, dímeros e procianidinas oligoméricas –, seguido dos ácidos hidroxicinâmicos (4%-18%), dos flavonóis (1%-11%), das dihidrochalconas (2%-6%) e das antocianinas (2%-6%) (Vrhovsek *et al.*, 2004).

As antocianinas, que contribuem para a coloração vermelha – um dos fatores mais importantes para a aceitação por parte de alguns consumidores (Hagen *et al.*, 2007) –, são encontradas exclusivamente na casca (Khanizadeh *et al.*, 2008; Iglesias *et al.*, 2008; Tsao *et al.*, 2003, Ju *et al.*, 1996) e a sua concentração pode ser muito divergente, mesmo entre frutos da mesma variedade (Vrhovsek *et al.*, 2004). Para algumas maçãs encontrou-se uma relação significativa entre o grau de coloração vermelha e o teor de polifenóis da casca, sobretudo devido ao teor de antocianinas (Drogoudi *et al.*, 2008). Outros autores, pelo contrário, não conseguiram

estabelecer a mesma associação, destacando-se o trabalho de Carbone e colaboradores que mostrou que a variedade *Hillwell* (com tons de vermelho) possui um teor de polifenóis mais baixo do que a variedade *Golden* (amarela) (Carbone *et al.*, 2011). Neste domínio, têm sido detectadas quantidades muito reduzidas de antocianinas na casca de diferentes variedades de maçãs, possivelmente devido a perdas substanciais de compostos nutracêuticos relacionadas com alguns genótipos atualmente produzidos (Wojdyło *et al.*, 2008; Łata, 2007a). Esta situação poderá denotar uma maior preocupação dos produtores, e da cadeia de distribuição em geral, com a aparência e a resistência a patógenos, e não tanto com o teor dos metabolitos secundários mais responsáveis pelos efeitos nutracêuticos das maçãs, razão pela qual algumas variedades, outrora com teores de polifenóis mais elevados, tenham perdido importância no que concerne aos seus efeitos bioativos (Carbone *et al.*, 2011).

As maçãs possuem alguns compostos que são encontrados apenas nestes frutos, como por exemplo a floretina e a floridzina (Mari *et al.*, 2010; Cheynier, 2005; Lotito & Frei, 2004; Spanos & Wrolstad, 1992). A concentração de floridzina tem vindo a ser correlacionada com a resistência ao pedrado (Petkovšek *et al.*, 2007; Ahn *et al.*, 2007), uma doença fúngica que provoca danos severos em macieiras (Leccese *et al.*, 2009) e à qual algumas variedades de maçãs, como por exemplo *Empire*, *Gala*, *Golden Delicious* e *Crispin*, são particularmente resistentes, ao contrário de outras, tais como *Delicious*, *McIntosh*, *Cortland*, *Granny Smith*, *Idared*, *Rome Beauty* e *Fuji*, que são mais suscetíveis (Ahn *et al.*, 2007).

No que concerne à comparação entre variedades produzidas em cultivo biológico e convencional, Chinnici e colaboradores encontraram teores de flavanóis, procianidinas, flavonóis, dihidrochalconas e ácidos hidrocínâmicos mais elevados nas variedades de produção convencional do que nas de produção biológica, para ambas as porções: polpa e casca. De entre os compostos fenólicos avaliados neste trabalho, os flavonóis foram os únicos que evidenciaram uma concentração mais elevada na casca de maçãs de produção biológica. (Chinnici *et al.*, 2004b). Já outros autores encontraram teores de ácidos orgânicos, flavanóis, dihidrochalconas, quercetinas e fenólicos totais mais elevados em maçãs de cultivo biológico do que em maçãs de cultivo tradicional (Veberic *et al.*, 2005; Petkovšek *et al.*, 2010). Veberic e co-autores apresentaram a mesma conclusão para os teores de ácidos hidroxibenzóicos (Veberic *et al.*, 2005). Petkovšek e colaboradores que compararam a concentração de polifenóis em frutos de um mesmo pomar em condições de produção semelhantes (solo, condições climáticas, número de horas de frio e de exposição solar), concluíram que a produção biológica condiciona o fruto a produzir mais polifenóis (Petkovšek *et al.*, 2010). Os autores deste estudo encontraram teores de polifenóis mais elevados em maçãs provenientes de produção biológica do que em maçãs de cultivo convencional, quer na polpa (1,1 a 2,6 vezes mais) quer na casca (1,2 a 3,2 vezes mais). Estas observações estão de acordo com estudos anteriores, que indicam que a produção de polifenóis é estimulada quando as macieiras são expostas a fatores de *stress*, como doenças, pragas, escassez de nutrientes,

exposição solar intensa e baixas temperaturas (Łata *et al.*, 2009; Petkovšek *et al.*, 2007; Chinnici *et al.*, 2004b; Dixon & Paiva, 1995). Todavia, esta diferença que parece existir no teor de polifenóis entre a produção biológica e a produção convencional, nem sempre tem correspondência na capacidade antioxidante total demonstrada pelos mesmos frutos (Petkovšek *et al.*, 2010; Chinnici *et al.*, 2004b).

A concentração de polifenóis está diretamente relacionada com o estado de maturação do fruto. Sabe-se por exemplo que o teor de floridzina, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, avicularina, hiperina, reinoutrina, quercitina, isoquercitina e rutina diminuem exponencialmente ao longo do desenvolvimento do fruto, enquanto a concentração de outros compostos se mantém inalterada ou aumenta ligeiramente (e.g. procianidina B1, procianidina B2, catequina, epicatequina e ácido gálico) (Zhang *et al.*, 2010). Por esta razão, as maçãs selecionadas para este estudo foram, tal como foi referido no Capítulo 2, colhidas de acordo com uma série de parâmetros pré-definidos, por forma a minimizar eventuais variações.

A literatura conta com diversos estudos que se debruçaram sobre o perfil e a quantificação de fenólicos em maçãs, alguns dos quais focando as diferenças entre as porções polpa e casca, tal com o trabalho aqui apresentado. Por forma a facilitar a leitura, os dados bibliográficos detalhados foram compilados em diversas tabelas que são apresentadas em anexo (Anexo I). Os resultados serão discutidos de seguida de forma sumária.

4.1.1.1. Flavonóides presentes nas maçãs

De entre as diversas classes de fenólicos, os flavonóides são aquela que mais tem sido associada à proteção do organismo contra diversas patologias. Estes compostos, conhecidos há mais de um século como pigmentos (Ross & Kasum, 2002), são os compostos polifenólicos mais comuns encontrados em plantas (Kris-Etherton *et al.*, 2002), tendo sido já identificados mais de 6.400 flavonóides diferentes (MacLean *et al.*, 2006; Woffram *et al.*, 2002), pertencentes às seguintes classes: flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), antocianinas, antocianidinas, isoflavonas, dihidroflavonóis e chalconas. Estes compostos possuem múltiplos grupos hidroxilos dadores de eletrões e um elevado número de ligações duplas, propriedades que concorrem para a caracterização dos flavonóides como antioxidantes poderosos, sequestradores de radicais livres, quelantes metálicos e inibidores da peroxidação dos lípidos (González-Gallego *et al.*, 2007; D'Abrosca *et al.*, 2007; Halliwell *et al.*, 2005; Heim *et al.*, 2002; Van der Sluis *et al.*, 2001; Schieber *et al.*, 2001; Cook & Samman, 1996). Para além de serem relevantes para as plantas, os flavonóides são também muito importantes para a saúde humana, sendo-lhes atribuídas diversas capacidades terapêuticas potenciais em relação a doenças cardiovasculares, úlceras gástricas e duodenais, cancro e patologias hepáticas, para além de outros efeitos importantes como a sua ação antiviral, antialérgica, antitrombótica e

anti-inflamatória (González-Gallego *et al.*, 2007), e outras que foram abordadas no Capítulo 1. No que respeita à dieta humana, estes compostos provêm sobretudo de frutos, vegetais, vinhos, chás e cacau (Heim *et al.*, 2002).

As maçãs constituem uma das principais fontes de flavonóides na dieta ocidental, juntamente com o chá, o vinho e as cebolas, e fornecem aproximadamente 22% dos fenólicos consumidos *per capita* (Lotito & Frei, 2004). Os três grupos de flavonóides mais importantes em maçãs são os flavanóis ou catequinas, os flavonóis e as antocianinas (Van der Sluis *et al.*, 2002). Lee e colaboradores apontam a quercetina, a epicatequina e a procianidina como os compostos que mais contribuem para a atividade antioxidante total das maçãs, respetivamente com 34,7%, 19,9% e 19,0% (Lee *et al.*, 2003). Outros autores referem que os principais flavonóides em maçãs são a quercetina-3-O- β -D-glucopiranosídeo (82,6%) e a quercetina-3-O- β -D-galactopiranosídeo (17,1%), seguidos de outros compostos em quantidades vestigiais: quercetina (0,2%), (-)-catequina e quercetina-3-O-R-L-arabinofuranosídeo (He & Liu, 2008). Outros trabalhos mostraram, no entanto, que as procianidinas evidenciam uma atividade antioxidante ainda mais relevante do que a quercetina (Tsao *et al.*, 2005; Vanzani *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2002; Chinnici *et al.*, 2004b), composto que em maçãs está presente em proporção superior à média registada em grande parte dos frutos (Harborne & Williams, 2000). Outros compostos, que ocorrem em maçãs em concentrações elevadas, como a floridzina, a floretina (dihidrochalconas) e o ácido clorogénico (ácido hidroxicinâmico) contribuem, no seu somatório, com menos de 20% da atividade antioxidante do fruto (Lotito & Frei, 2004) e a vitamina C com menos de 0,4% (Eberhardt *et al.*, 2000). A elevada atividade antioxidante global dos flavonóides parece estar relacionada com o facto destes compostos possuírem um grande número de grupos hidroxilo potenciais doadores de eletrões e um número elevado de ligações duplas entre os carbonos 6-3-6 (MacLean *et al.*, 2006).

4.1.1.2. Métodos analíticos

Os compostos fenólicos são compostos de polaridade média a alta e apresentam pesos moleculares relativamente elevados. Estas duas características confere-lhes uma baixa volatilidade pelo que não é frequente serem analisados por cromatografia gasosa, uma vez que esta técnica requer a volatilização dos analitos.

Verifica-se assim que na maior parte dos trabalhos dedicados à determinação de perfis de compostos fenólicos se utilizou a cromatografia líquida em fase reversa, habitualmente com colunas C18, e a detecção dos analitos efetuada com um detetor de UV-VIS com vetor de díodos (Haminiuk *et al.*, 2012).

A separação cromatográfica envolve a utilização de um gradiente entre uma solução aquosa acidificada e um solvente orgânico, tipicamente o acetonitrilo ou o metanol também acidificado. A utilização de um gradiente permite iniciar a separação cromatográfica com a solução aquosa, o que favorece a retenção dos analitos pela coluna, e aumentar progressivamente a proporção de solvente orgânico de forma a efetuar a sua eluição sucessiva.

A acidificação dos eluentes utilizados permite manter protonados quer os grupos carboxilo, quer os grupos hidroxilo dos polifenóis e, desta forma, evitar alguns artefactos como a divisão de cada pico cromatográfico em dois picos adjacentes, que correspondem ao analito e à sua base conjugada.

Os polifenóis apresentam em geral uma banda de absorção a 280 nm e bandas intensas até aos 600 nm podendo alguma informação estrutural ser deduzida a partir das características espectrais de cada pico cromatográfico. Alguns autores efetuaram a determinação de polifenóis em maçãs utilizando um único comprimento de onda de deteção, nomeadamente 260 nm (D'Abrosca *et al.*, 2007) ou 280 nm (Ćetković *et al.*, 2008). Contudo a grande maioria dos autores optou por utilizar comprimentos de onda seletivos, designadamente: 280 nm para ácidos hidroxibenzóicos, flavanóis e dihidrochalconas (Khanizadeh *et al.*, 2008; Tsao *et al.*, 2003; Van der Sluis *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2011; Podsędek *et al.*, 2000; McGhie *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2010; Łata *et al.*, 2005a; Chinnici *et al.*, 2004a; Petkovšek *et al.*, 2007; Mari *et al.*, 2010); 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos (Khanizadeh *et al.*, 2008; Alonso-Salces *et al.*, 2004; Tsao *et al.*, 2003; Torres *et al.*, 2011; Alonso-Salces *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2010; Chinnici *et al.*, 2004a; Łata *et al.*, 2005a); 350 nm (Petkovšek *et al.*, 2007; Chinnici *et al.*, 2004a), 360 nm (Alonso-Salces *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2011), 365 nm (Zhang *et al.*, 2010) ou 370 nm para flavonóis; e 500 nm (Mari *et al.*, 2010), 520 nm (Khanizadeh *et al.*, 2008; Łata *et al.*, 2005a), 525 nm (Van der Sluis *et al.*, 2002) ou 530 nm (Alonso-Salces *et al.*, 2004; McGhie *et al.*, 2005) para antocianinas.

A extração dos compostos fenólicos das maçãs é também uma operação delicada, pois deve ser feita rapidamente e a baixa temperatura, para evitar a degradação dos compostos fenólicos pela enzima polifenol oxidase ou por decomposição fotoquímica. Neste trabalho, optou-se por colocar o fruto congelado em contacto com o solvente de extração e efetuar a extração à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

O extrato bruto contém uma série de compostos co-extraídos que se não forem separados contribuem para uma elevação da linha de base do cromatograma e para uma perda de sensibilidade. Assim é frequente purificar os extratos brutos utilizando colunas de extração em fase sólida, com a mesma fase que a coluna cromatográfica (C18) (Torres *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2008; McGhie *et al.*, 2005; Łata *et al.*, 2005a; Chinnici *et al.*, 2004a; Tsau *et al.*, 2003). O extrato acidificado é aplicado na coluna e os interferentes mais

comuns, como os açúcares ou os ácidos orgânicos, são eluídos com soluções aquosas. Os polifenóis adsorvidos à coluna podem depois ser eluídos utilizando o mesmo eluente orgânico que se vai usar na separação cromatográfica. Desta forma potenciais interferentes não polares, como trigliceridos ou carotenóides, ficam adsorvidos na coluna de SPE e, assim, impedidos de deteriorarem o sistema cromatografico.

4.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os extratos brutos combinados de acetona e metanol acidificado foram concentrados, purificados por extração em fase sólida, e os polifenóis das maçãs (fração polpa e fração casca) foram eluídos e analisados por HPLC-DAD. Os compostos fenólicos, cuja presença em maçãs é referida com maior frequência na literatura, foram quantificados por calibração com padrões autênticos.

4.2.1. Materiais

Os solventes utilizados (acetonitrilo, acetato de etilo e metanol), todos de grau HPLC, foram adquiridos, respetivamente, às empresas J.T. Baker (Deventer, Holanda), Fisher Scientific (Leicestershire, Inglaterra) e Carlo Erba (Rodano, Itália). O hidróxido de sódio proveio da Labsolve (Lisboa, Portugal) e o ácido fórmico da Panreac (Barcelona, Espanha). As colunas SPE C18 e os filtros de seringa foram adquiridos à J.T. Baker (Deventer, Holanda) e à B.G.B Analytik (Alexandria, EUA), respetivamente. Os padrões dihidrato de floridzina, quercetina, floretina, hidrato de quercitrina, procianidina B2, ácido ferúlico, ácido protocatecuico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido clorogénico e ácido p-cumárico, e a mistura de catequinas (Green Tea Catechin Mix) – com os compostos (–)-galocatequina, (+)-catequina, (–)-epicatequina, cafeína, (–)-epigallocatequina-3-galato, (–)-epigallocatequina-3-galato, (–)-galocatequina-3-galato, (–)-epicatequina-3-galato e (–)-catequina-3-galato – foram adquiridos à Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA) e o padrão isoquercitrina à HWI Analytik GMBH (Rülzheim, Alemanha).

Os valores apresentados para o fruto inteiro (polpa + casca) resultaram de uma estimativa, tendo em consideração o peso médio das frações polpa e casca, avaliado para cada variedade.

4.2.2. Perfil de fenólicos e sua quantificação por HPLC-DAD

Purificação dos extratos brutos das maçãs

Dos extratos de maçãs preparados de acordo com o descrito no Capítulo 2, foram usados, separadamente, 10 mL de extrato de polpa e 50 mL de extrato de casca, de maneira a permitir a obtenção de cromatogramas definidos e com boa resolução, seguindo-se a metodologia descrita por Vrhovsek *et al.* (2004), com algumas alterações. O volume de extrato foi concentrado em rotavapor (Buchi/Rotavapor R-200, Flawil, Suíça) até um volume de cerca de 1 mL, ao qual se adicionaram 5 mL de NaOH 0,05 M. Este extrato foi aplicado numa coluna de extração em fase sólida SPE (C18, 500 mg) (J. T. Baker, Deventer, Holanda), previamente

condicionada com 4 mL de metanol, 2 mL de água Milli-Q (Millipore, Molsheim, France) e, por fim, 2 mL de NaOH 0,05 M. A amostra foi posteriormente eluída com os seguintes solventes, na sequência apresentada: 3 mL de NaOH 0,05 M (F1); 3 mL de água Mili-Q (F2); 3 mL de eluente B (F3) [ácido fórmico/acetonitrilo/água, numa proporção de 0,5:40:59,5 (v/v/v)] e, por fim, 3 mL de metanol (F4). A fração F1 foi descartada, enquanto as frações F2, F3 e F4 foram filtradas através de filtros de seringa de 0,22 µm (BGB Analytik AG, Boeckten, Suíça) para posterior análise cromatográfica. A coluna foi submetida a um processo de lavagem com 2 mL de acetato de etilo, para remoção de compostos apolares (fenólicos apolares e carotenóides), e posteriormente condicionada com metanol e água acidificada, para poder ser reutilizada na análise do duplicado da amostra.

Análise cromatográfica por HPLC-DAD

A determinação do perfil cromatográfico e a quantificação dos componentes fenólicos das maçãs foram efetuados por cromatografia líquida de alta eficiência num equipamento (Spectra System, EUA) equipado com uma bomba binária (Spectra System P2000, EUA), um amostrador automático (Spectra System AS1000, EUA) e um detetor de fotodiodos (HPLC-DAD) (Spectra System SN4000, EUA). A separação foi executada numa coluna C18 de fase reversa (25 cm x 4,6 mm, 5 µm de tamanho de partícula) (Interchrome® UP50DB-25K), mantida à temperatura ambiente em laboratório climatizado a 25 °C. A separação cromatográfica foi efetuada de acordo com uma metodologia desenvolvida por Bravo e co-autores para a determinação de compostos fenólicos em vinhos: os extratos de polifenóis (20 µL) foram eluídos utilizando um gradiente entre um solvente aquoso – ácido fórmico a 0,5% (v/v) –, e um solvente orgânico – ácido fórmico, acetonitrilo e água na proporção volumétrica de 5:400:595. A eluição decorreu a um fluxo de 0,7 mL/min e a concentração do eluente B programada da seguinte forma: 0 a 20% do início até 15 min, 20% dos 15 min aos 25 min, 20% a 70% dos 25 min aos 70 min, 70% entre 70 min e 75 min, 70% a 100% entre os 75 min e os 85 min, mantendo-se em 100% de eluente B até aos 90 min; programou-se depois uma reversão até à condição inicial (0% de B) entre os 90 min e os 110 min (Bravo *et al.*, 2006).

Os dados foram adquiridos através do programa informático Xcalibur™ 2.0.6 (Thermo Fisher Scientific Corporation), com varrimento entre 200 e 600 nm, com um intervalo de 1 nm, à velocidade de aquisição de 1 ciclo por segundo. Selecionaram-se também alguns comprimentos de onda específicos de aquisição, nomeadamente: 280 nm (catequinas e dihidrochalconas), 320 nm (ácidos hidrocínâmicos), 360 nm (flavonóis) e 520 nm (antocianinas), compreendendo em cada caso um intervalo de ± 9 nm (para baixo e para cima). A seleção destes comprimentos de onda baseou-se em informação da literatura referente aos máximos de absorção específicos de diferentes famílias de compostos fenólicos (Tsao *et al.*, 2003; Khanizadeh *et al.*, 2007b). Dado que o equipamento só permite a definição de três comprimentos seletivos, utilizaram-se para a polpa os comprimentos de onda de 280, 320 e

360 nm, enquanto no caso da casca se substituiu o comprimento de onda de 360 nm pelo de 520 nm, para ser possível a monitorização das antocianinas que só existem na casca (Khanizadeh *et al.*, 2008; Łata *et al.*, 2005a; Vrhovsek *et al.*, 2004).

A identificação e a quantificação dos compostos foram realizadas por comparação com as seguintes soluções padrão específicas, a concentrações conhecidas previamente preparadas em metanol: ácido gálico e ácido protocatecuico (ácidos hidroxibenzóicos); ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico (ácidos hidroxicinâmicos); (-)-galocatequina, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-galocatequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato e (-)-catequina-3-galato (catequinas) e procianidina B2 (flavanóis); hidrato de quercitrina, isoquercitrina e quercetina (flavonóis); e dihidrato de floridzina e floretina (dihidrochalconas). Para os outros compostos fenólicos presentes nos extratos efetuou-se uma identificação estrutural tentativa com base nas características do seu espectro de UV-VIS e no seu tempo de retenção, sendo que a sua quantificação foi efetuada através da curva de calibração de um padrão selecionado pelas semelhanças estruturais ou através da curva de calibração do ácido gálico.

Para esclarecer algumas identificações efetuadas, efetuaram-se fortificações dos extratos com misturas dos padrões disponíveis e, desta forma, minimizaram-se erros devidos às flutuações observadas nos tempos de retenção e que se devem a oscilações na temperatura ambiente ou no estado da coluna cromatográfica.

Todas as determinações foram realizadas em duplicado e cada um dos compostos foi quantificado em mg/100 g de peso fresco de maçã.

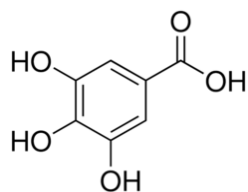
4.2.2.1. Preparação das soluções-padrão

As soluções-padrão individuais foram preparadas em metanol, tendo em consideração a devida correção do peso de acordo com o grau de pureza do composto. Posteriormente, preparam-se soluções compósitas que foram sujeitas a uma série de diluições, por forma a obter soluções de trabalho nas gamas de concentrações adequadas a cada padrão:

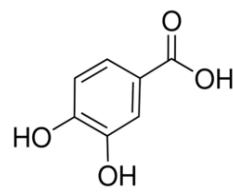
- Ácidos hidroxibenzóicos (ácidos gálico e protocatecuico) (Figura 4.2): concentrações entre 9,0 e 90 mg/L;
- Ácidos hidroxicinâmicos (ácidos clorogénico, cafeico, p-cumárico e ferúlico) (Figura 4.3): concentrações entre 9,0 e 90 mg/L;
- Flavanóis (catequinas) ((-)-galocatequina, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-galocatequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato e (-)-catequina-3-galato) (Figura 4.4): concentrações entre 12,5 e 100 mg/L. Os padrões de catequinas foram comprados sob a forma de uma mistura de

compostos bioativos do chá verde que incluía a cafeína que, por não ocorrer em maçãs, não foi considerada;

- Procianidina B2 (Figura 4.4): concentrações entre 11,3 e 180,0 mg/L;
- Dihidrochalconas (dihidrato de floridzina e floretina) (Figura 4.5): concentrações entre 12,5 e 200 mg/L;
- Flavonóis (quercetina, hidrato de quercitrina e isoquercitrina) (Figura 4.6): concentrações entre 12,5 e 200 mg/L.

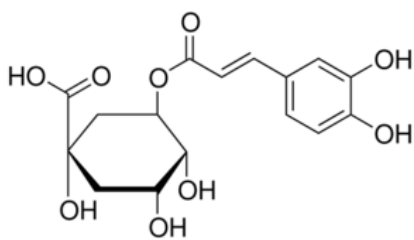


Ácido Gálico

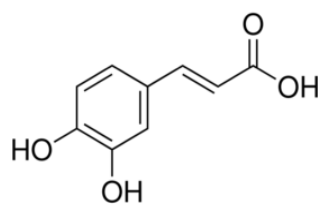


Ácido protocatecuico

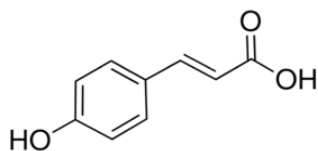
Figura 4.2. Estrutura dos ácidos hidroxibenzoicos injetados (<http://www.sigmaaldrich.com>).



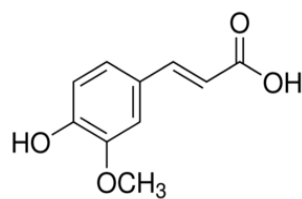
Ácido Clorogénico



Ácido cafeico



Ácido p-cumárico



Ácido Ferúlico

Figura 4.3. Estrutura dos ácidos hidroxicinâmicos injetados (<http://www.sigmaaldrich.com>).

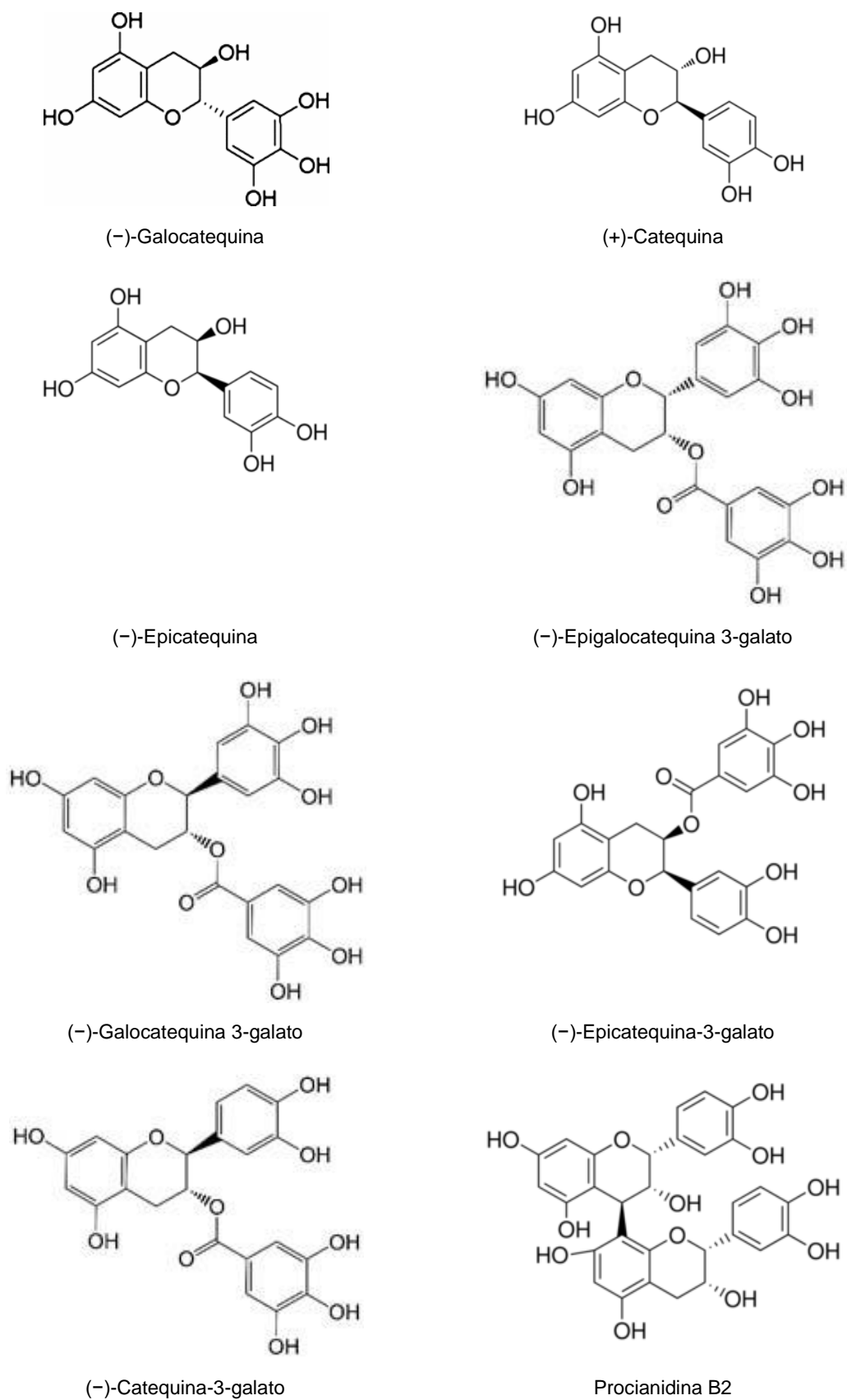


Figura 4.4. Estrutura dos flavanóis injetados (<http://www.sigmaaldrich.com>).

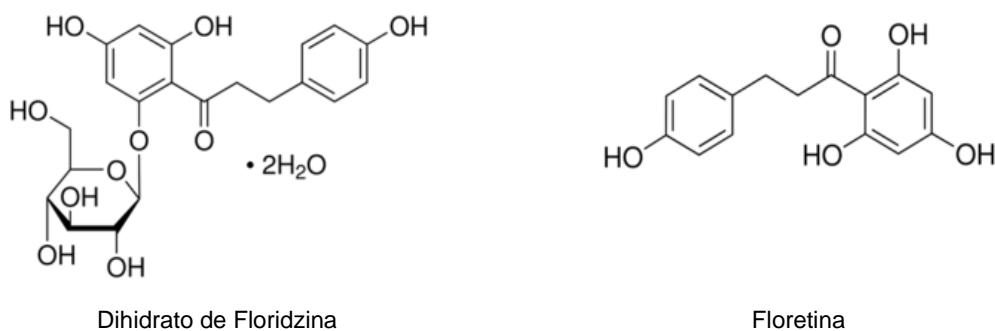


Figura 4.5. Estrutura das dihidrochalconas injetadas (<http://www.sigmaaldrich.com>).

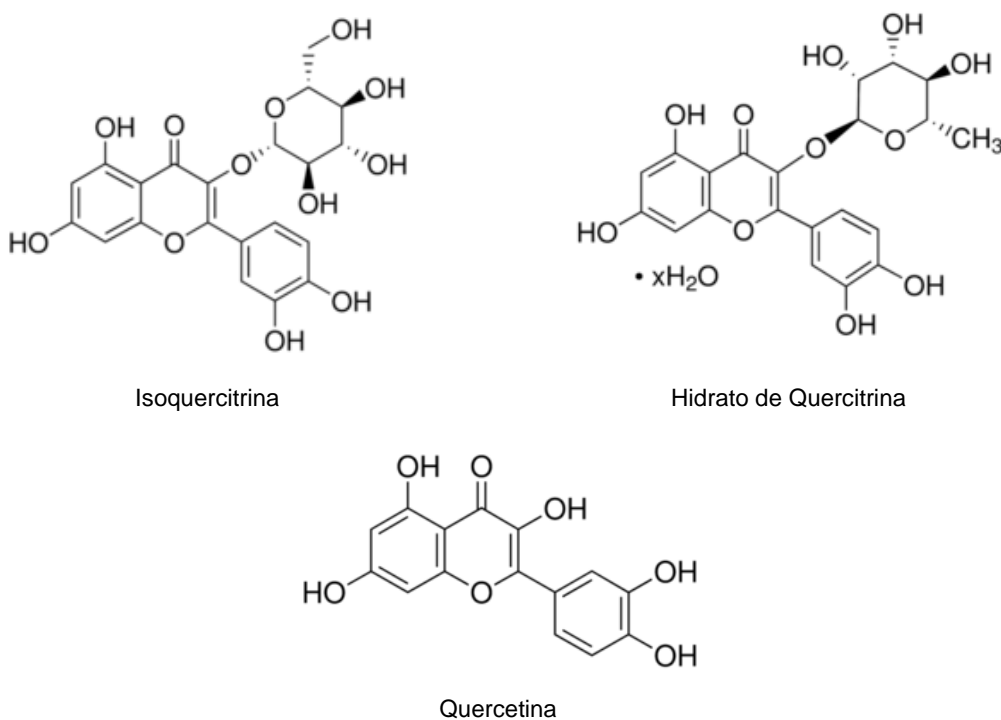


Figura 4.6. Estrutura dos flavonóis injetados (<http://www.sigmaaldrich.com>).

4.2.2.2. Seleção dos compostos fenólicos a identificar

Após recolha dos dados cromatográficos procedeu-se à seleção dos picos com uma área cromatográfica relativa igual ou superior a 2% em pelo menos uma das amostras analisadas em duplicado. Tentou-se, desta forma, evitar a seleção de picos demasiado pequenos cujo espectro de UV-VIS seria de difícil análise por ser muito influenciado pelo espectro residual da linha de base.

As áreas cromatográficas dos compostos detetados cumulativamente nas frações F2 e F3 foram somadas para se calcular o seu teor total no extrato. O teor de antocianinas totais e o

teor de fenólicos totais foram quantificados igualmente a partir do somatório das áreas cromatográficas totais, nas frações atrás referidas, a 520 nm e a 280 nm, respetivamente.

4.2.3. Quantificação dos compostos fenólicos individuais

A ordem de eluição dos padrões cromatográficos utilizados foi avaliada por injeção de soluções-padrão individuais em metanol, numa concentração de 100 mg/L ou, no caso dos flavanóis (catequinas), por injeção de uma mistura contendo 8 compostos (compostos integrantes da mistura de catequinas de chá verde adquirida, e da qual se dispunha de um cromatograma de referência): (–)-galocatequina, (+)-catequina, (–)-epicatequina, cafeína, (–)-epigallocatequina-3-galato, (–)-epigallocatequina-3-galato, (–)-galocatequina-3-galato, (–)-epicatequina-3-galato e (–)-catequina-3-galato.

Após o traçado das retas de calibração para cada componente individual determinou-se a correspondente equação da reta por regressão linear e avaliou-se o coeficiente de determinação R^2 , recorrendo às ferramentas disponíveis no programa informático Microsoft Excel 2007 (Microsoft Office).

As janelas de retenção dos padrões e o coeficiente de correlação da equação linear são apresentados na Tabela 4.1, tal como os limites de deteção e de quantificação analíticos que foram determinados de acordo com as equações apresentadas de seguida (Shabir, 2003; Sarkar *et al.*, 2006) (Eq. 4.1 e Eq. 4.2).

$$LOD = \frac{3,3 \times \sigma \times V}{S \times 1000 \text{ mL}} \quad \text{Eq. 4.1.}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma \times V}{S \times 1000 \text{ mL}} \quad \text{Eq. 4.2.}$$

onde σ é o erro padrão (mg/L) da área cromatográfica para cada concentração de padrão utilizado, V é o volume de eluente utilizado (mL) e S é o declive da reta padrão.

Os limites de deteção e quantificação analíticos calculados em mg/L foram depois convertidos em mg/100 g, com base na quantidade de polpa e casca usados.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos fenólicos presentes na polpa e na casca das 17 variedades de maçãs incluídas neste trabalho foram extraídos através da metodologia atrás descrita e purificados por extração em fase sólida com colunas C18.

Este procedimento visa eliminar alguns compostos como açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e outros componentes da maçã que, apesar de não apresentarem máximos de absorção nos mesmos comprimentos de onda que os compostos fenólicos, representam uma interferência significativa, pois podem existir em grande concentração e, portanto, mesmo com uma baixa absorvância nesses comprimentos de onda, provocam uma elevação da linha de base, para além de interagirem com a coluna cromatográfica e afetarem a eluição dos compostos fenólicos presentes em concentrações muito mais reduzidas.

Este efeito foi avaliado numa fase preliminar deste trabalho, na qual se tentou efetuar a análise de extratos brutos redissolvidos no eluente cromatográfico sendo os resultados insatisfatórios quer do ponto de vista da estabilidade cromatográfica, quer do ponto de vista da sensibilidade da deteção.

4.3.1. Perfil de fenólicos por HPLC-DAD

Os compostos fenólicos das maçãs foram fracionados por extração em fase sólida, de acordo com o procedimento atrás descrito, e as frações F2, F3 e F4 foram analisadas por HPLC-DAD. A fração F1 foi analisada na fase de otimização do método e verificou-se que não revelava a presença de compostos fenólicos, pelo que não foi continuada a sua análise nos restantes ensaios (Figura 4.9). Constatou-se que os compostos de interesse foram preferencialmente recuperados sobretudo nas frações F2 (água) e F3 (eluente B); a fração F4 foi analisada para todos os extratos mas, como não se encontraram picos relevantes, não foi incluída na análise subsequente (Figuras 4.7 a 4.10).

Como seria de esperar, dada a natureza dos eluentes utilizados, na fração F2 encontram-se predominantemente compostos fenólicos mais polares, como os ácidos hidroxibenzóicos, que são pouco retidos na coluna C18, pelo que surgem a tempos de retenção curtos (Figura 4.7). Já na fração F3 surgem alguns compostos fenólicos menos polares e/ou de maior peso molecular como os flavanóis, os flavonóis, as hidrochalconas ou as antocianinas que, por esse motivo, são mais solúveis no solvente orgânico e são eluídos mais lentamente da coluna cromatográfica (Figura 4.8).

A qualidade da separação cromatográfica manteve-se ao longo do período de análise e garantiu-se sempre a reprodutibilidade dos duplicados.

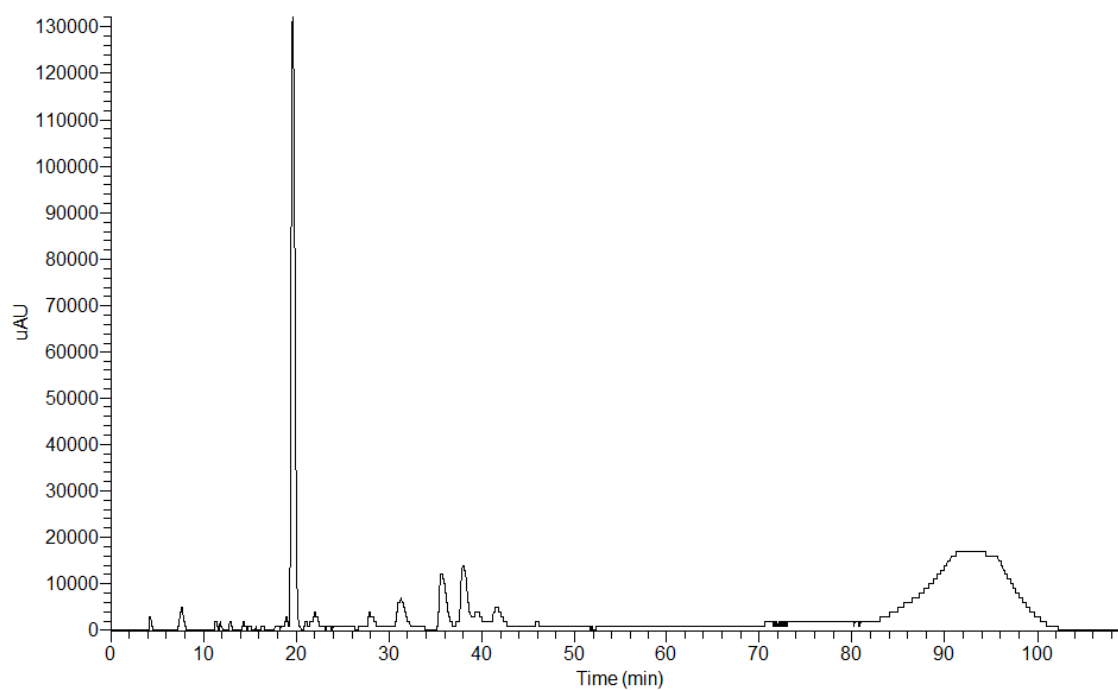


Figura 4.4. Cromatograma da fração F2 (a 280 nm) da casca da variedade Maçã Branca.

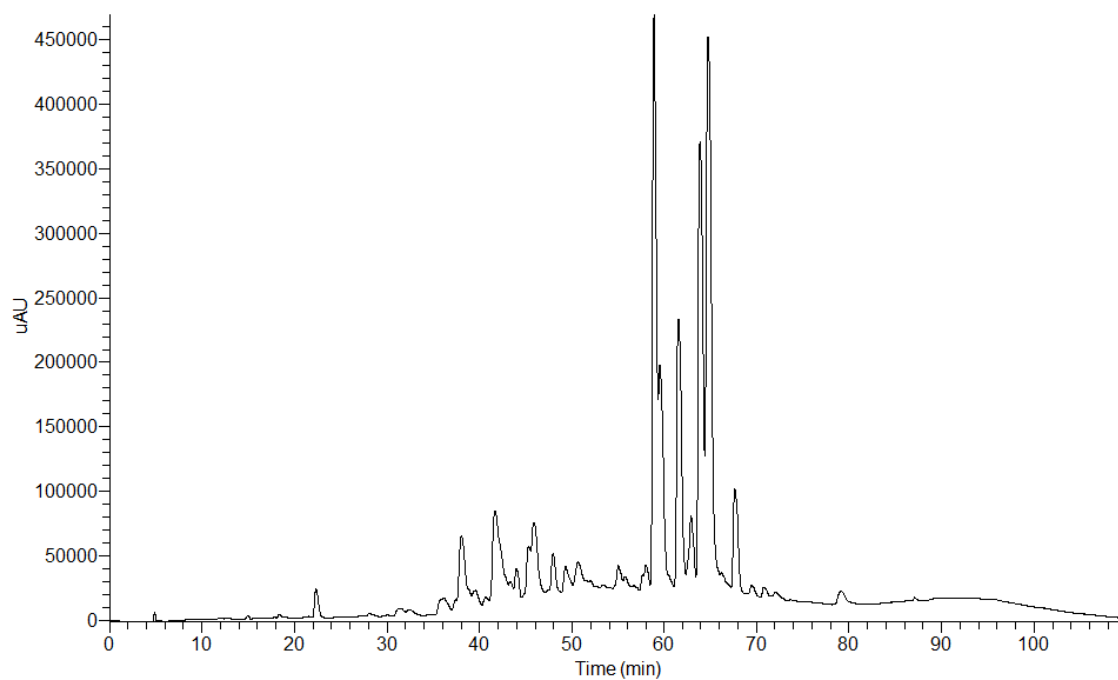


Figura 4.5. Cromatograma da fração F3 (a 280 nm) da casca da variedade Maçã Branca.

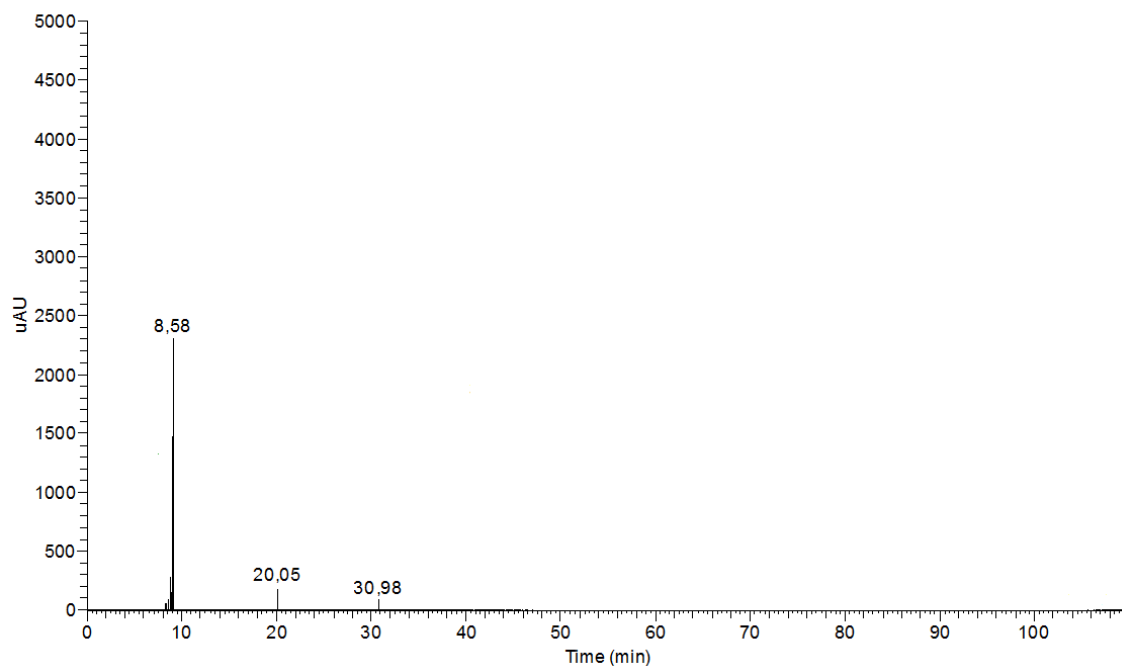


Figura 4.6. Cromatograma da fração F1 (a 280 nm) da casca da variedade Maçã Branca.

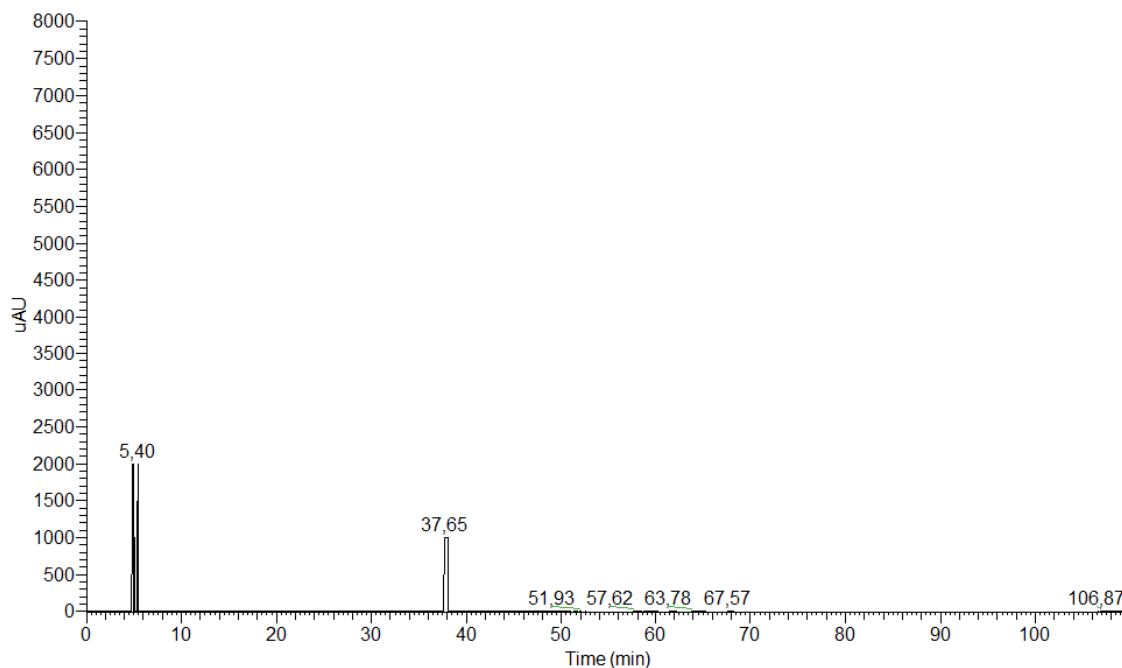


Figura 4.7. Cromatograma da fração F4 (a 280 nm) da casca da variedade Maçã Branca.

Os padrões cromatográficos selecionados foram analisados nas mesmas condições cromatográficas que as amostras e foram definidas as correspondentes retas de calibração nas gamas de concentração que corresponderam a coeficientes de correlação superiores a 0,99. As janelas de retenção, comprimento de onda de quantificação, gama de trabalho, equação da

reta de calibração, coeficiente de correlação e os limites de detecção e de quantificação do método são apresentados na Tabela 4.1.

Os limites de detecção e de quantificação na casca são superiores aos da polpa, pois a extração foi realizada a partir de uma quantidade dez vezes menor de matriz. Ainda assim, atingiram-se limites de quantificação na casca situados entre 0,5 mg/100g e 2,3 mg/100g, que parecem adequados à quantificação dos componentes mais representativos dos componentes fenólicos totais das maçãs.

O ácido gálico, a (+)-catequina, o ácido cafeico e o ácido p-cumárico foram os compostos com maior fator de resposta nas condições cromatográficas utilizadas, pelo que apresentaram limites de detecção inferiores a 40 µg/100g na polpa e inferiores a 200 µg/100g na casca.

Tabela 4.1. Ordem de eluição, janela de retenção, parâmetros de calibração e limites de detecção e de quantificação dos padrões cromatográficos utilizados.

Composto	Tempo de Retenção (min)		Comprimento de onda de quantificação (nm)	Gama de trabalho (mg/L)		Reta de Calibração (1)	Coeficiente de Correlação (R)	Limite Detecção (mg/100 g)		Limite Quantificação (mg/100 g)	
	Mín	Max		Mín	Max			Polpa	Casca	Polpa	Casca
Ácido Gálico	15,70	15,78	280	9,0	89,5	$y = 424824x + 74463$	0,9995	0,035	0,178	0,105	0,541
(-)-Galocatequina *	21,53	21,67	280	12,5	100	$y = 25239x - 21540$	0,9986	0,108	0,554	0,326	1,679
Ácido Protocatecuico	22,68	22,70	280	8,7	87,1	$y = 244665x + 125573$	0,9999	0,070	0,362	0,213	1,097
(+)-Catequina *	35,08	35,63	280	12,5	100	$y = 88054x + 187978$	0,9996	0,037	0,189	0,111	0,572
Ácido Clorogénio	38,08	38,15	320	7,7	76,8	$y = 416163x - 1E+06$	0,9996	0,079	0,406	0,239	1,230
Ácido Cafeico	40,85	40,90	320	8,9	88,6	$y = 793366x - 852062$	0,9997	0,033	0,170	0,100	0,515
Procianidina B2	40,93	41,33	280	11,3	180,0	$y = 95521x + 55154$	0,9999	0,134	0,689	0,406	2,089
(-)-Epicatequina *	44,42	45,10	280	12,5	100	$y = 67929x + 132523$	0,9998	0,147	0,758	0,446	2,297
(-)-Epigallocatequina-3-galato *	45,02	45,73	280	12,5	100	$y = 146597x + 484794$	0,9998	0,141	0,726	0,427	2,199
Ácido p-cumárico	46,95	48,58	320	8,9	88,9	$y = 958001x + 3E+06$	0,9994	0,036	0,187	0,110	0,567
(-)-Galocatequina-3-galato *	48,92	49,68	280	12,5	100	$y = 178486x + 118642$	0,9996	0,131	0,676	0,398	2,050
Ácido Ferúlico	54,58	55,28	320	9,0	71,6	$y = 808546x + 150555$	0,9992	0,061	0,314	0,185	0,953
(-)-Epicatequina-3-galato *	55,48	56,35	280	12,5	100	$y = 224538x + 494231$	0,9997	0,153	0,789	0,464	2,390
(-)-Catequina-3-galato *	57,23	58,13	280	12,5	100	$y = 218717x + 374010$	0,9998	0,143	0,734	0,432	2,225
Isoquercitrina	59,80	59,82	360	12,5	200	$y = 195223x + 3815,4$	0,9999	0,041	0,209	0,123	0,633
Hidrato de quercitrina	64,83	65,28	360	9,8	156,0	$y = 269664x - 19805$	1,0000	0,050	0,258	0,152	0,783
Dihidrato de floridzina	68,72	68,80	280	11,5	184,4	$y = 335354x + 44253$	0,9999	0,123	0,634	0,373	1,920
Quercetina	80,23	80,95	360	12,2	195,3	$y = 302594x - 568845$	1,0000	0,044	0,226	0,133	0,685
Floretina	86,88	87,27	280	12,4	198,0	$y = 299456x - 23087$	0,9999	0,120	0,620	0,365	1,880

(1) Na reta de calibração o "x" refere-se à concentração do analito e o "y" à área do pico.

* Compostos injetados sob a forma de mistura, pelo que a ordem de eluição de cada um dos compostos foi determinada por comparação com o cromatograma de referência do fabricante.

Para além dos compostos para os quais se dispunha de padrões cromatográficos e que, portanto, foram identificados por comparação do espectro de UV-VIS e do tempo de retenção com um padrão autêntico, foi possível identificar outros compostos que apareceram em concentrações significativas (área cromatográfica relativa superior a 2%) em pelo menos alguns dos extratos analisados. Para estes compostos foi realizada uma identificação estrutural por tentativa, ou seja, tentou identificar-se a que família de compostos fenólicos pertenceriam, através da análise do respetivo espectro de UV-VIS e do tempo de retenção, por comparação com os padrões disponíveis, por comparação com dados espectrais existentes na literatura e por comparação com perfis de compostos fenólicos de maçãs, determinados em condições análogas às utilizadas neste trabalho (Tabela 4.2).

Como resultado, foram identificados globalmente nas diversas variedades de maçãs estudadas, um total de 38 compostos, 26 dos quais na polpa e 35 na casca (Tabela 4.2), sendo que, como seria de esperar, quer pelo elevado número de compostos identificados quer pelo extenso efetivo de amostras, nenhuma das variedades apresentou concentrações significativas para a totalidade dos referidos compostos.

Tabela 4.2. Ordem de eluição e tempos de retenção dos principais compostos identificados na polpa e na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Pico	Composto	Porção onde foi Identificado		Comprimento de Onda Seletivo (nm)	Tempo de Retenção (min)	
		Polpa	Casca		Mín	Max
1	Ácido hidroxicinâmico 1*	X		320	11,87	12,02
2	Ácido gálico	X	X	280	15,02	16,95
nd	(-)-Galocatequina	X	X	280	nd	nd
3	Ácido protocatecuico	X	X	280	21,26	22,85
4	Ácido hidroxicinâmico 2*		X	320	26,75	27,51
5	Flavanol (catequina) 1*		X	280	28,68	30,73
6	Procianidina 1*	X	X	280	30,98	32,88
7	Ácido hidroxibenzóico 1*		X	280	34,08	35,72
8	(+)-Catequina	X	X	280	35,51	37,70
9	Ácido hidroxicinâmico 3*		X	320	36,14	37,47

nd – Composto não detetado na amostra.

* Composto específico não escrutinado (a partir dos padrões utilizados).

** Isómero da isoquercitrina. *** Isómero do ácido p-cumárico.

Tabela 4.2. (Continuação).

Pico	Composto	Porção onde foi Identificado		Comprimento de Onda Seletivo (nm)	Tempo de Retenção (min)	
		Polpa	Casca		Mín	Max
10	Ácido clorogénico	X	X	320	37,98	39,16
11	Ácido cafeico	X	X	320	39,95	40,74
12	Flavanol (catequina) 2*	X		280	40,89	42,08
13	Procianidina B2	X	X	280	40,50	42,71
14	Antocianina 1*		X	520	41,94	42,99
15	Ácido hidroxibenzóico 2*		X	280	42,80	43,95
16	(-)-Epicatequina	X	X	280	44,18	45,96
nd	(-)-Epigallocatequina-3-galato	X	X	280	nd	nd
17	Antocianina 2*		X	520	45,63	46,34
18	Ácido p-cumárico	X	X	320	45,92	48,58
19	Flavanol (catequina) 3*	X	X	280	46,87	49,32
nd	(-)-Galocatequina-3-galato	X	X	280	nd	nd
20	Flavanol (catequina) 4*	X	X	280	48,25	50,74
21	Flavanol (catequina) 5*	X	X	280	49,58	51,99
22	Antocianina 3*		X	520	50,18	51,98
23	Flavanol (catequina) 6*	X	X	280	52,55	55,35
24	Ácido Ferúlico	X	X	320	54,53	56,08
25	(-)-Epicatequina-3-galato	X	X	280	55,01	56,85
26	(-)-Catequina-3-galato	X	X	280	57,13	58,67
27	Flavanol (catequina) 7*		X	280	57,28	58,60
28	Flavonol 1*		X	320	57,78	58,35
29	Flavonol 2*		X	320	58,59	59,13
30	Isoquercitrina	X	X	320 (p) / 360 (c)	59,05	61,11
31	Flavonol 3*		X	320	61,00	62,54
32	Floretina derivado 1*	X	X	280	62,95	64,49
33	Flavonol 4**	X	X	320 (p) / 360 (c)	63,80	64,97
34	Quercitrina	X	X	320 (p) / 360 (c)	64,62	65,98
35	Ácido hidroxicinâmico 4***	X	X	280	65,77	67,11
36	Floridzina	X	X	280	67,67	69,27
37	Quercetina	X	X	320 (p) / 360 (c)	79,43	80,98
38	Floretina	X	X	280	86,51	87,68

nd – Composto não detetado na amostra.

p – Polpa; c (casca).

* Composto específico não escrutinado (a partir dos padrões utilizados).

** Isómero da isoquercitrina. *** Isómero do ácido p-cumárico.

Da análise das tabelas anteriores há a salientar a ordem de eluição dos compostos identificados, sobretudo no que concerne ao ácido clorogénico e à procianidina B2, cuja eluição é ordenada de forma distinta em diferentes trabalhos publicados (Tsao *et al.*, 2003; Kahle *et al.*, 2005a; Huber & Rupasinghe, 2009; Mari *et al.*, 2010; Escarpa & González, 1998; Veberic *et al.*, 2005; Chinnici *et al.*, 2004a; Hagen *et al.*, 2007). No caso particular do trabalho aqui

apresentado o ácido clorogénico surge previamente à procianidina B2, o que está de acordo com o reportado por Veberic *et al.* (2005), Chinnici *et al.* (2004a), Kahle *et al.*, (2005a) e Mari *et al.*, (2010). Para além do mais, a sequência apresentada foi corroborada pela injeção individual dos padrões, pela fortificação e pela análise dos espetros que, no caso destes compostos, são consideravelmente diferentes.

Antes de proceder à análise quantitativa dos compostos identificados, são apresentados de seguida exemplos de cromatogramas obtidos em varrimento completo (200 a 600 nm) para um exemplar tradicional (*Maçã Branca*) e para uma variedade exótica (*Reineta Parda*), quer para a polpa (Figuras 4.11 e 4.12) quer para a casca (Figuras 4.13 e 4.14). Para além destes, é apresentado um outro cromatograma (Figura 4.15) obtido a 520 nm, para evidenciar a deteção de antocianinas, que não se mostram visíveis em varrimento completo.

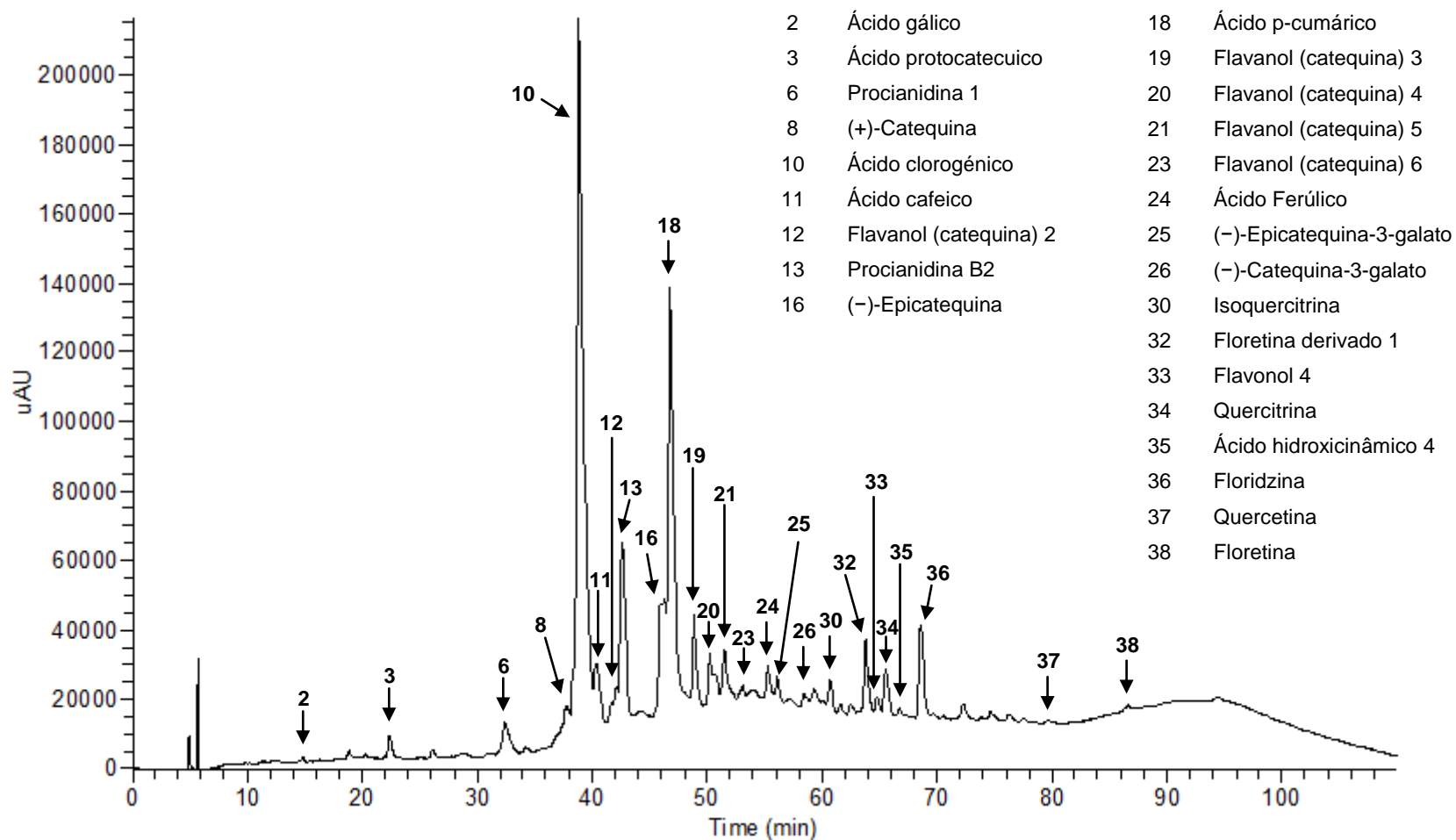


Figura 4.8. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da polpa da variedade *Maçã Branca*.

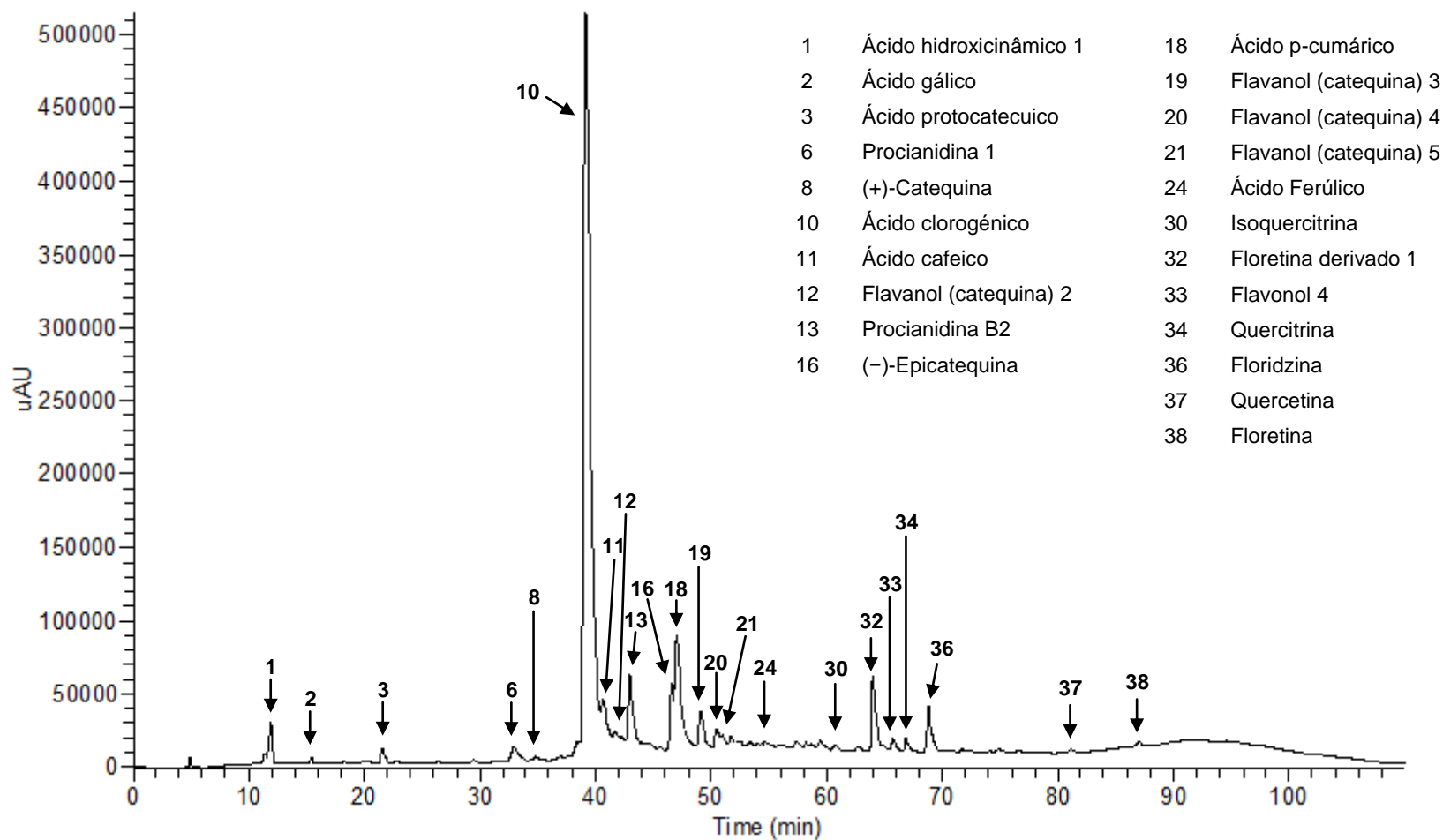


Figura 4.9. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da polpa da variedade *Reineta Parda*.

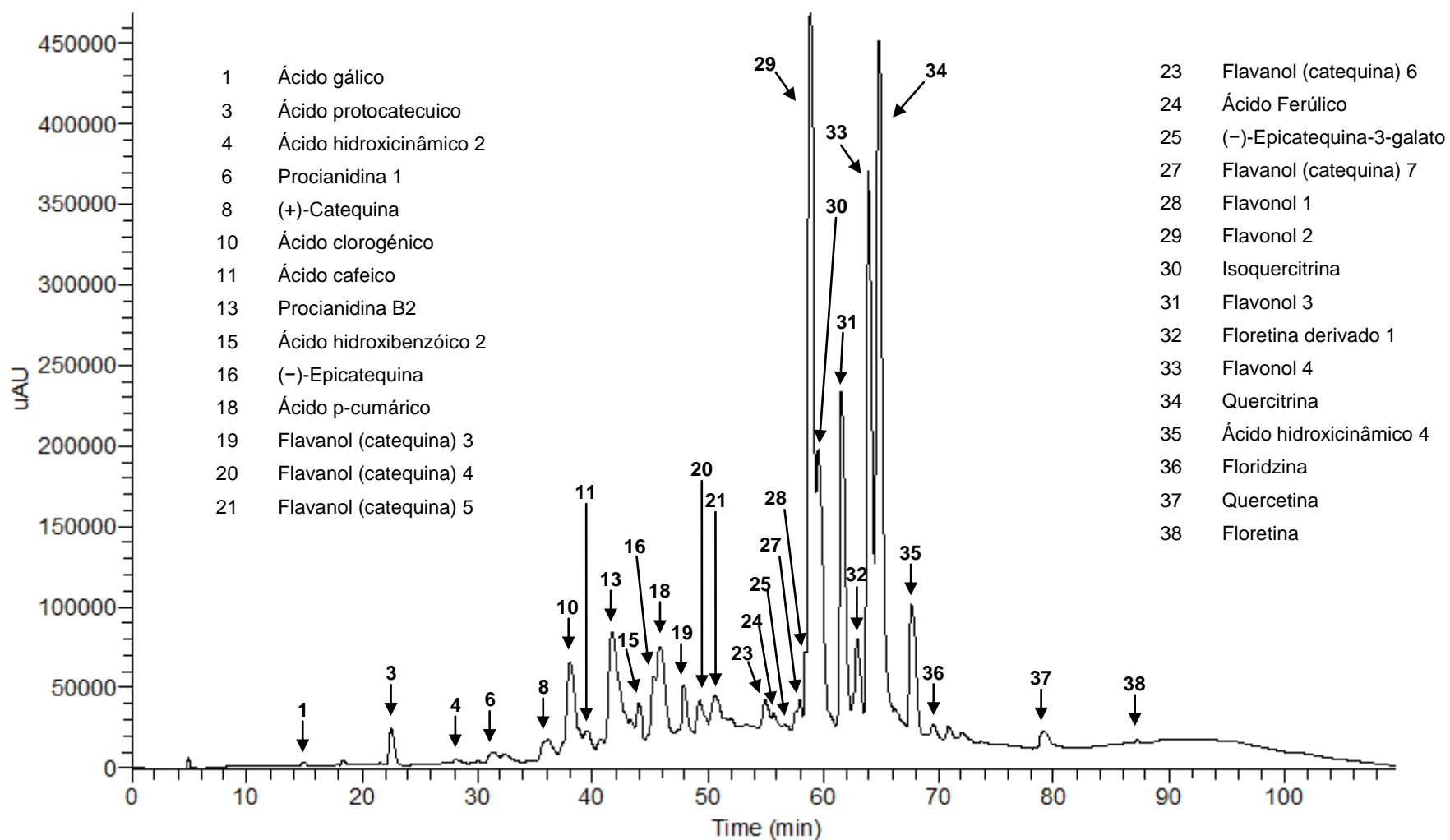


Figura 4.10. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da casca da variedade *Maçã Branca*.

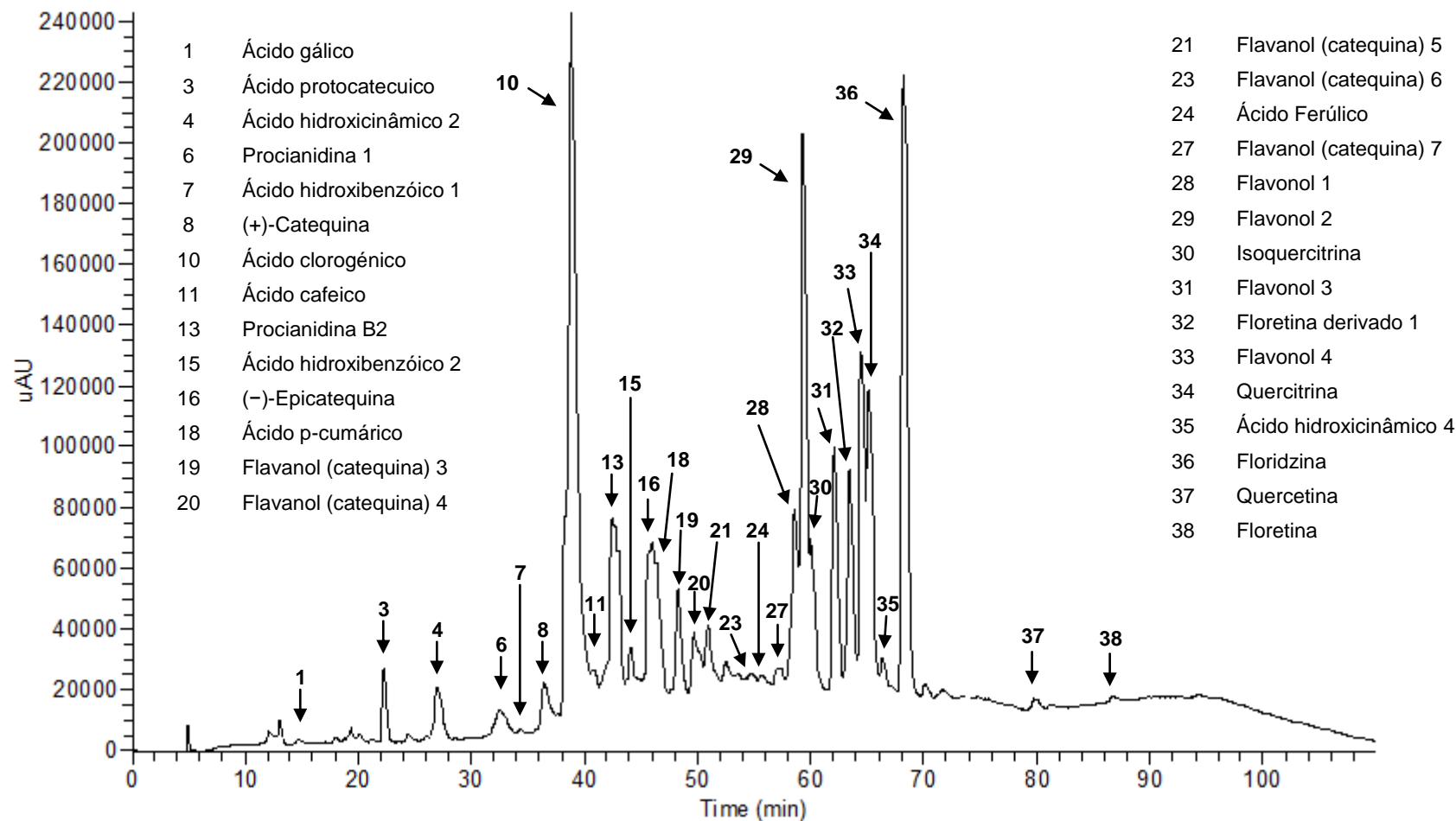


Figura 4.11. Cromatograma da fração F3 (varrimento de 200 a 600 nm) da casca da variedade *Reineta Parda*.

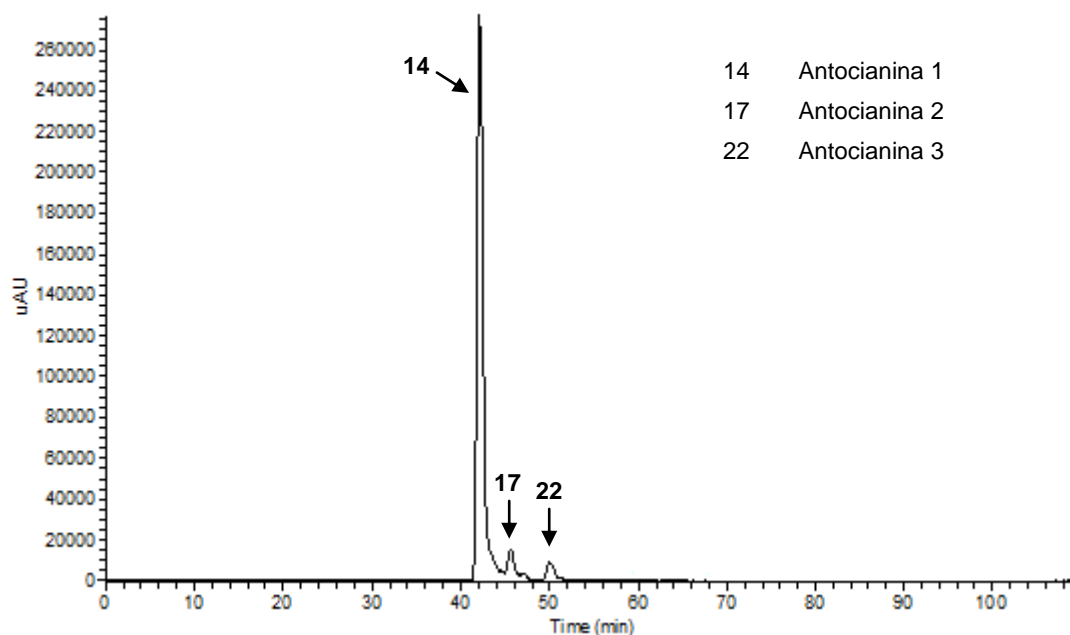


Figura 4.12. Cromatograma da fração F3 (520 nm) da casca da variedade *Jonagold*.

De seguida são apresentados a título de exemplo os cromatogramas obtidos nos diversos comprimentos de onda seletivos para a polpa e casca de uma das amostras analisadas (*Maçã Branca*) (Figuras 4.16 a 4.21). Nestes cromatogramas identificaram-se apenas os compostos para os quais a absorvância se mostrou máxima no respetivo comprimento de onda, nomeadamente a 280 nm (ácidos hidroxibenzóicos, flavanóis e dihidrochalconas), a 320 nm (ácidos hidroxicinâmicos), a 360 nm (flavonóis) e a 520 nm (antocianinas).

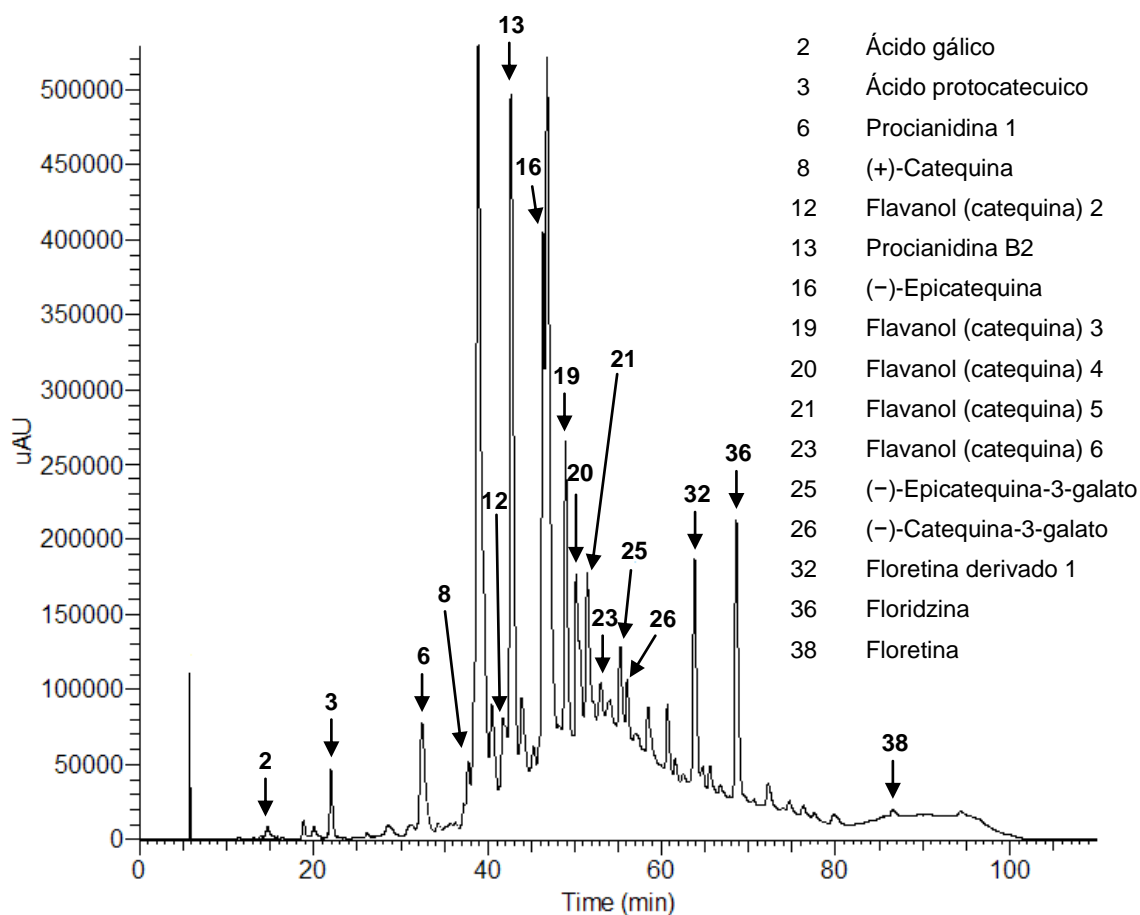


Figura 4.13. Cromatograma da fração F3 (280 nm) da polpa da variedade *Maçã Branca*.

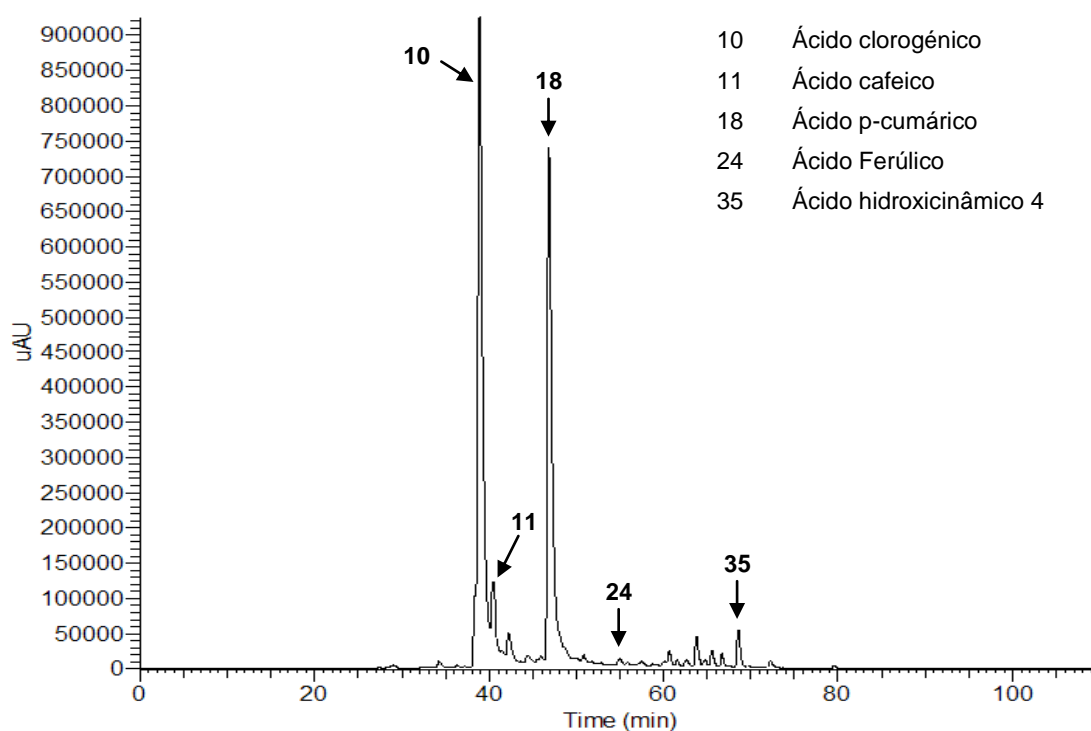


Figura 4.14. Cromatograma da fração F3 (320 nm) da polpa da variedade *Maçã Branca*.

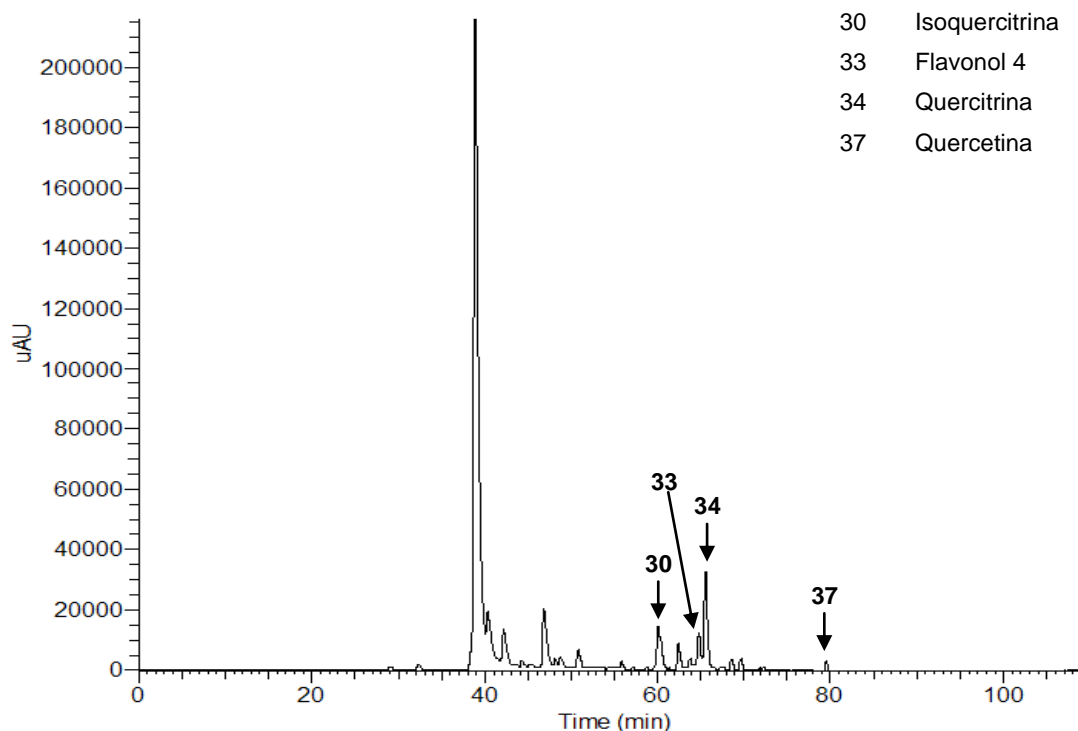


Figura 4.15. Cromatograma da fração F3 (360 nm) da polpa da variedade *Maçã Branca*.

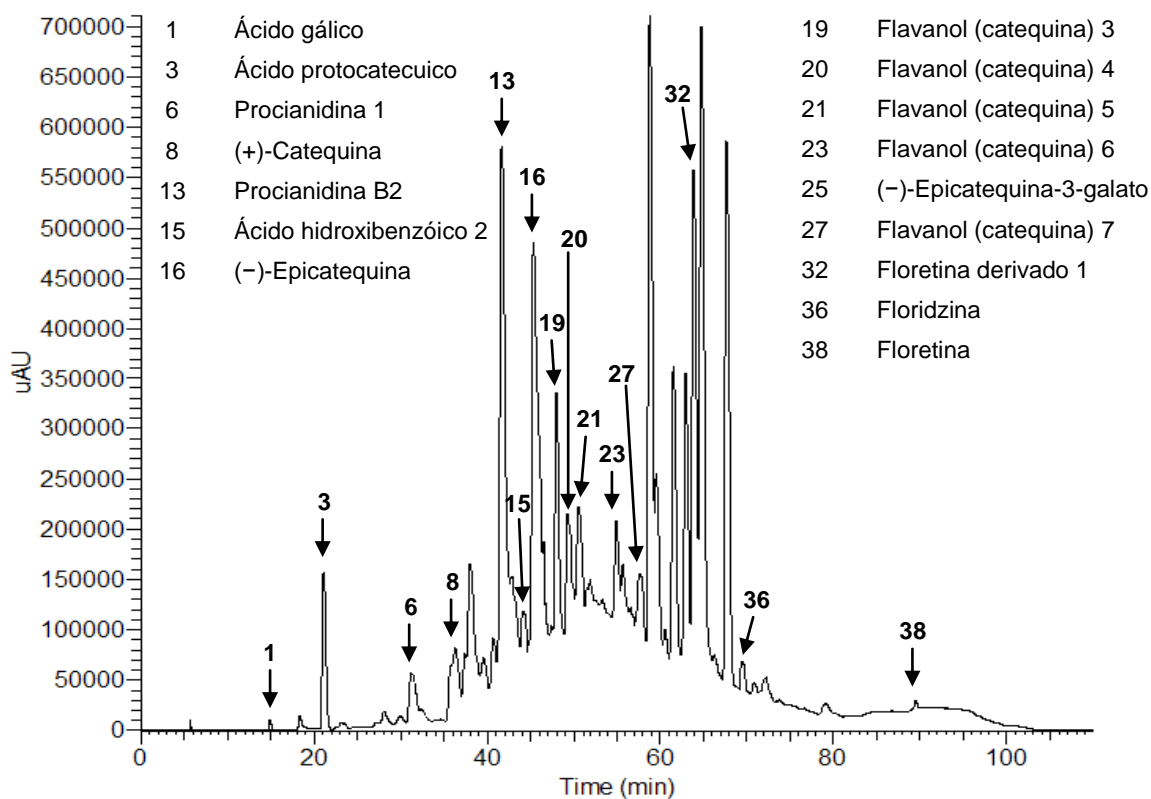


Figura 4.16. Cromatograma da fração F3 (280 nm) da casca da variedade *Maçã Branca*.

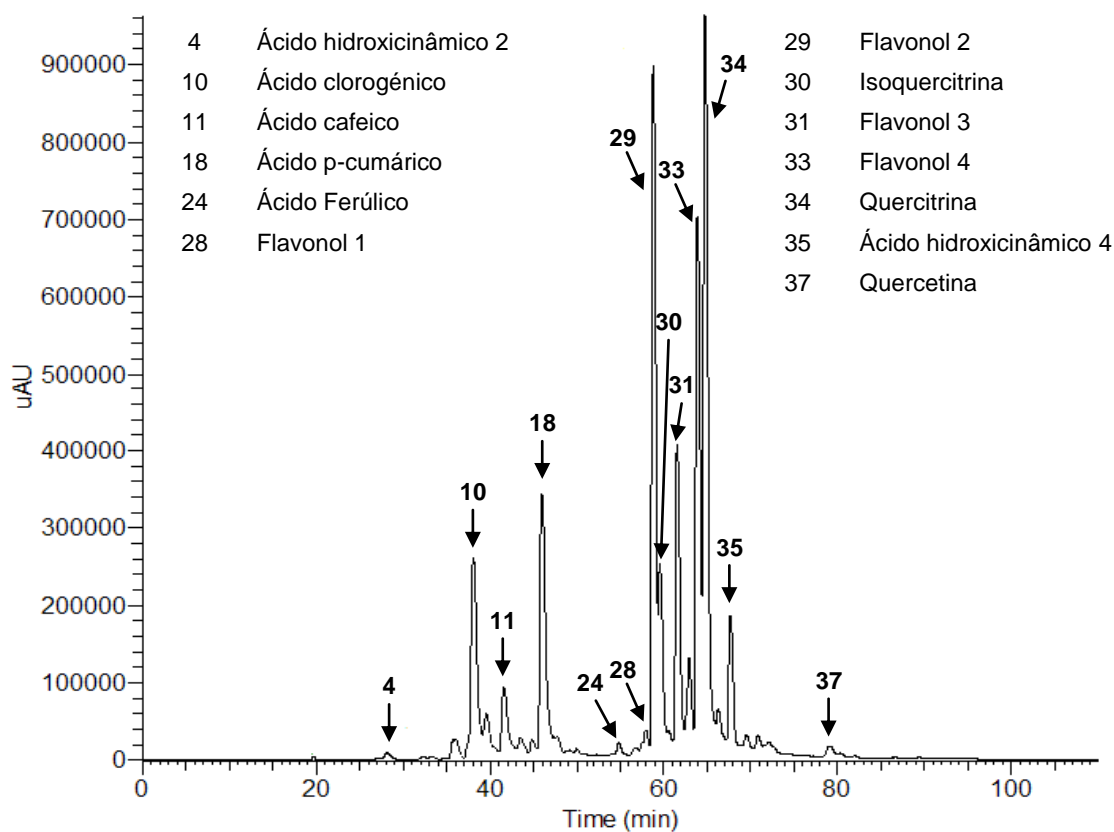


Figura 4.17. Cromatograma da fração F3 (320 nm) da casca da variedade *Maçã Branca*.

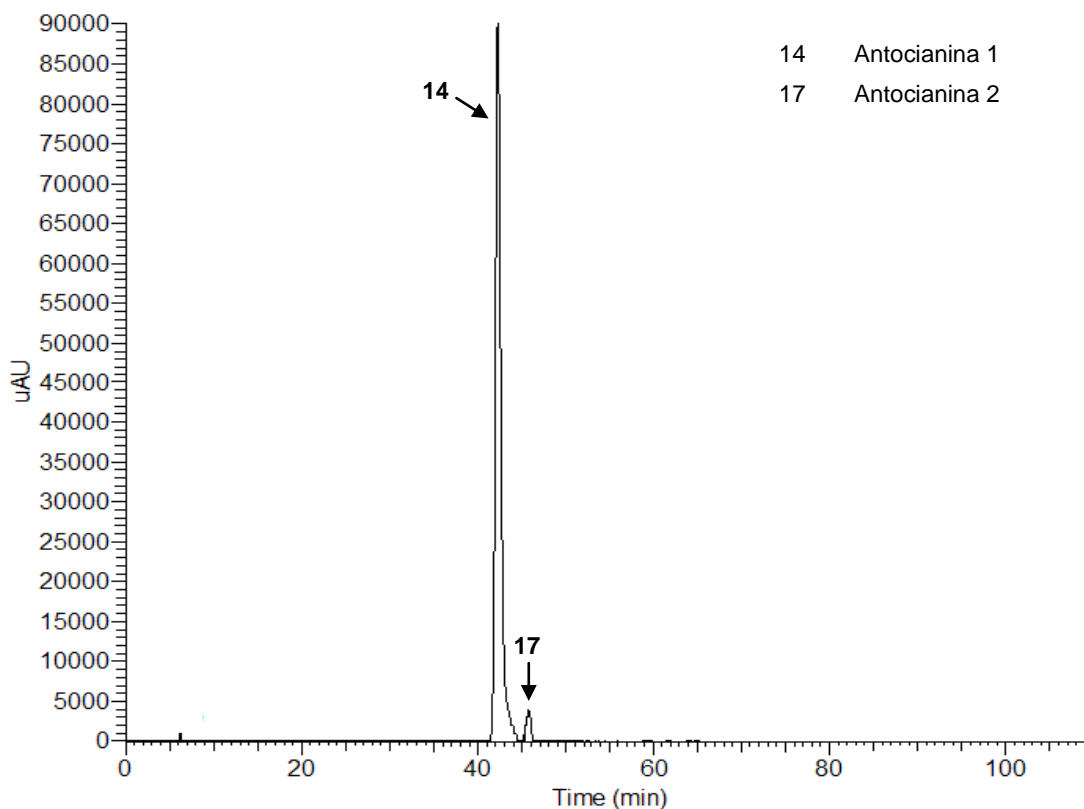


Figura 4.18. Cromatograma da fração F3 (520 nm) da casca da variedade *Maçã Branca*.

4.3.2. Quantificação de fenólicos por HPLC-DAD

O teor de fenólicos totais foi avaliado a partir do somatório das áreas de todos os compostos detetados a 280 nm por HPLC-DAD e expresso em equivalentes de ácido gálico (mg/100 g) utilizando a correspondente curva de calibração (Tabela 4.3).

A maior parte dos compostos fenólicos apresentam uma banda de absorção intensa a 280 nm, ainda que não corresponda ao máximo de absorção, pelo que é comum efetuar a deteção específica de compostos fenólicos a este comprimento de onda, quando por exemplo se utilizam detetores de UV-VIS a um comprimento de onda fixo.

Os resultados obtidos mostraram que o teor de fenólicos avaliado por HPLC-DAD foi mais elevado na casca do que na polpa, em linha com o que foi apurado pelo método Folin-Ciocalteu (Capítulo 3) e com os dados bibliográficos já discutidos. Os dados obtidos revelaram uma grande diversidade de valores entre as diferentes variedades de maçãs, em acordo com o reportado por trabalhos anteriores que também incluíram várias cultivares (Petkovšek *et al.*, 2007; Petkovšek *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2008; Khanizadeh *et al.*, 2007a; Kondo *et al.*, 2002; Chinnici *et al.*, 2004b; Veberic *et al.*, 2005; Hagen *et al.*, 2007; Tsao *et al.*, 2003; Alonso-Salces *et al.*, 2005; Alonso-Salces *et al.*, 2004; Carbone *et al.*, 2011). No caso do trabalho aqui apresentado, o teor de fenólicos totais situou-se entre $15,03 \pm 0,14$ mg/100 g PF (*Royal Gala*) e $101,70 \pm 0,06$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na polpa, e entre $58,98 \pm 0,10$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $306,88 \pm 0,36$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*) na casca, o que, tendo em consideração o peso das frações polpa e casca de cada variedade, se traduz numa amplitude estimada compreendida entre $20,92 \pm 0,07$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $119,20 \pm 0,72$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) no fruto inteiro, valores em acordo com estudos anteriores (Anexo I).

O teor de fenólicos totais determinado por HPLC revelou ser inferior ao constatado pelo método Folin-Ciocalteu, o que também está de acordo com a literatura consultada (Huber & Rupasinghe, 2009; Ćetković *et al.*, 2008; Khanizadeh *et al.*, 2007a; Vanzani *et al.*, 2005; Tsao *et al.*, 2005; Pearson *et al.*, 1999). Esta diferença ocorre devido ao facto do método Folin-Ciocalteu sofrer a interferência de uma série de compostos, como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, que não são contabilizados no método de HPLC-DAD devido à purificação do extrato e à deteção seletiva a 280 nm (Ćetković *et al.*, 2008; Vrhovsek *et al.*, 2004). Todavia, existe uma correlação fortemente positiva e muito significativa ($p < 0,01$) entre as duas técnicas, que mostrou ser maior na casca ($r = 0,88$) do que na polpa ($r = 0,83$), tal como concluído por Khanizadeh e colaboradores num estudo semelhante (Khanizadeh *et al.*, 2008). Ao contrário do que foi relatado por alguns autores, (Huber & Rupasinghe, 2009; Khanizadeh *et al.*, 2007b; Pearson *et al.*, 1999), o trabalho aqui apresentado não mostra diferenças substantivas na comparação do teor de compostos fenólicos das diferentes variedades, quando avaliado por ambos os métodos, sobretudo no que respeita à fração polpa, o que dá corpo à boa correlação encontrada. Estes resultados permitem afirmar que o método de Folin-Ciocalteu

pode ser utilizado como base para uma análise comparativa do teor de compostos fenólicos de maçãs, apesar de poder apresentar alguns desvios relativamente ao valor absoluto deste parâmetro.

De seguida apresentam-se os resultados referentes à composição de fenólicos de cada uma das 17 variedades estudadas (Tabela 4.4). Os valores referentes aos compostos ácido gálico, (–)-galocatequina, ácido hidroxicinâmico 3, (–)-epicatequina-3-galato, (–)-galocatequina-3-galato, ácido ferúlico, (–)-epicatequina-3-galato, (–)-catequina-3-galato e floretina não foram inseridos na referida tabela, dado que estes ficaram abaixo do limite de quantificação.

Tabela 4.3. Teor de fenólicos de fenólicos totais determinado por Folin-Ciocalteu e por HPLC-DAD de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Concentração (mg GAE/100 g)							
Variedades	Fenólicos Totais por Folin-Ciocalteu			Fenólicos Totais por HPLC- DAD (280 nm)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro*	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	150,37 ± 4,70 ^{gh}	411,54 ± 8,83 ^h	177,17 ± 5,13 ^{ef}	67,92 ± 0,06 ^j	156,35 ± 1,96 ^g	76,99 ± 0,15 ^j
	Pardo Lindo	179,30 ± 0,29ⁱ	449,21 ± 10,41 ^{ij}	203,34 ± 0,66^{fg}	101,70 ± 0,51^m	298,21 ± 2,83 ^m	119,20 ± 0,72^m
	Querina	95,91 ± 8,48 ^{bcd}	242,60 ± 4,37 ^c	112,82 ± 7,00 ^b	35,44 ± 0,11 ^f	118,90 ± 0,80 ^d	45,06 ± 0,19 ^e
	Pipo de Basto	124,54 ± 11,55 ^{efg}	261,39 ± 6,73 ^{cd}	142,43 ± 10,92 ^{cd}	58,91 ± 0,73 ⁱ	128,59 ± 0,00 ^e	68,02 ± 0,63 ⁱ
	Maçã Verdeal	72,47 ± 6,43 ^{ab}	155,83 ± 4,98^a	81,71 ± 5,17 ^a	16,91 ± 0,09 ^b	63,98 ± 0,02 ^b	22,13 ± 0,08 ^{ab}
	Maçã Espelho	105,03 ± 2,70 ^{cde}	382,17 ± 8,82 ^g	122,43 ± 1,98 ^{bc}	36,36 ± 0,21 ^f	239,34 ± 0,18 ^k	49,10 ± 0,18 ^f
	Casa Nova Alcobaça	116,52 ± 3,74 ^{cdef}	465,99 ± 8,34 ^j	159,54 ± 2,26 ^{de}	27,21 ± 0,07 ^d	234,55 ± 0,68 ^j	52,74 ± 0,02 ^g
	Camoesa da Azoia	149,48 ± 2,15 ^{gh}	430,67 ± 6,44 ^{hi}	173,02 ± 1,43 ^{ef}	40,17 ± 0,18 ^g	191,30 ± 0,71 ⁱ	52,82 ± 0,22 ^g
	Maçã Cunha	122,08 ± 7,73 ^{def}	283,01 ± 6,83 ^d	143,36 ± 7,61 ^{cd}	15,13 ± 0,09 ^a	58,98 ± 0,10^a	20,92 ± 0,07 ^a
	Maçã Branca	160,05 ± 0,11 ^{hi}	475,77 ± 1,93 ^{jk}	194,11 ± 0,31 ^{fg}	92,68 ± 0,11 ^l	291,20 ± 0,33 ^l	114,10 ± 0,06 ^l
	Bravo de Esmolfe	137,90 ± 12,50 ^{fgh}	316,29 ± 8,58 ^{ef}	158,24 ± 10,1 ^{de}	75,85 ± 0,06 ^k	191,13 ± 2,03 ⁱ	88,99 ± 0,18 ^k
	Média	128,51 ± 5,49	352,22 ± 6,93	151,65 ± 4,78	51,66 ± 0,20	179,32 ± 0,88	64,55 ± 0,23
EXTÓTICAS	Starking	125,17 ± 11,34 ^{efg}	331,49 ± 10,19 ^f	147,55 ± 11,21 ^d	32,92 ± 0,37 ^e	188,14 ± 1,78 ⁱ	49,76 ± 0,14 ^f
	Jonagold	104,49 ± 8,79 ^{cde}	282,97 ± 5,99 ^d	122,52 ± 8,51 ^{bc}	25,33 ± 0,01 ^c	133,27 ± 0,72 ^f	36,23 ± 0,06 ^c
	Golden Delicious	99,07 ± 4,60 ^{bcd}	253,91 ± 8,54 ^c	114,84 ± 3,27 ^b	25,46 ± 0,32 ^c	152,14 ± 0,99 ^g	38,36 ± 0,19 ^d
	Fuji	92,03 ± 2,11 ^{bc}	290,18 ± 4,31 ^{de}	111,32 ± 1,49 ^b	43,55 ± 0,53 ^h	166,17 ± 0,16 ^h	55,48 ± 0,50 ^h
	Reineta Parda	164,39 ± 1,01 ^{hi}	495,35 ± 8,17^k	195,95 ± 1,69 ^{fg}	92,44 ± 0,42 ^l	306,88 ± 0,36ⁿ	112,89 ± 0,41 ^l
	Royal Gala	62,03 ± 5,18^a	201,57 ± 2,02 ^b	74,85 ± 4,52^a	15,03 ± 0,14^a	100,64 ± 0,30 ^c	22,89 ± 0,15 ^b
	Média	107,86 ± 5,51	309,24 ± 6,54	127,84 ± 5,11	39,12 ± 0,30	174,54 ± 0,72	52,60 ± 0,24
* Fruto Inteiro (valor estimado). Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.							

Tabela 4.4. Composição de fenólicos de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Concentração (mg/100 g)									
Variedades	Ácido hidroxicinâmico 1* (1)			Ácido protocatecuico			Ácido hidroxicinâmico 2* (1)		
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro
TRADICIONAIS	Porta da Loja	14,09 ± 0,05 ⁱ	nd ^a	12,64 ± 0,05 ⁱ	vest ^a	4,14 ± 0,00 ^h	0,43 ± 0,00 ^b	nd ^a	vest ^a
	Pardo Lindo	5,30 ± 0,02 ^k	nd ^a	4,83 ± 0,01 ^k	vest ^a	3,08 ± 0,06 ^c	0,28 ± 0,01 ^a	nd ^a	vest ^a
	Querina	4,24 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	3,76 ± 0,01 ⁱ	0,42 ± 0,00 ^{fg}	2,82 ± 0,02 ^b	0,69 ± 0,00 ^f	nd ^a	vest ^a
	Pipo de Basto	2,17 ± 0,00 ^f	nd ^a	1,88 ± 0,00 ^f	0,44 ± 0,01 ^{gh}	2,96 ± 0,03 ^{bc}	0,77 ± 0,01 ^{gh}	nd ^a	vest ^a
	Maçã Verdeal	0,37 ± 0,01 ^c	nd ^a	0,33 ± 0,01 ^c	nd ^a	3,69 ± 0,02 ^e	0,41 ± 0,00 ^b	nd ^a	vest ^a
	Maçã Espelho	4,42 ± 0,01 ^j	nd ^a	4,14 ± 0,01 ^j	0,37 ± 0,01 ^e	5,06 ± 0,06 ^j	0,66 ± 0,02 ^{ef}	nd ^a	1,25 ± 0,00 ^b
	Casa Nova Alcobaça	vest ^a	nd ^a	vest ^a	0,46 ± 0,00 ^{hi}	3,35 ± 0,01 ^d	0,81 ± 0,00 ^j	nd ^a	vest ^a
	Camoesa da Azoia	vest ^a	nd ^a	vest ^a	0,42 ± 0,00 ^g	4,12 ± 0,01 ^h	0,73 ± 0,00 ^g	nd ^a	1,64 ± 0,01 ^c
	Maçã Cunha	0,75 ± 0,01 ^d	nd ^a	0,65 ± 0,01 ^d	0,48 ± 0,01 ^{ij}	3,88 ± 0,00 ^{fg}	0,93 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	vest ^a
	Maçã Branca	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,27 ± 0,00 ^c	3,72 ± 0,00 ^{ef}	0,65 ± 0,00 ^{de}	nd ^a	vest ^a
	Bravo de Esmolfe	1,09 ± 0,00 ^e	nd ^a	0,96 ± 0,00 ^e	0,33 ± 0,00 ^d	4,21 ± 0,11 ^h	0,78 ± 0,02 ^{hij}	nd ^a	nd ^a
	Média	2,95 ± 0,01	nd	2,65 ± 0,01	0,29 ± 0,01	3,73 ± 0,03	0,65 ± 0,01	nd	0,26 ± 0,00
EXTÓTICAS	Starking	vest ^a	nd ^a	vest ^a	0,22 ± 0,00 ^b	3,01 ± 0,02 ^{bc}	0,52 ± 0,00 ^c	nd ^a	vest ^a
	Jonagold	2,40 ± 0,01 ^g	nd ^a	2,16 ± 0,01 ^g	0,39 ± 0,00 ^e	2,62 ± 0,00 ^a	0,61 ± 0,00 ^d	nd ^a	vest ^a
	Golden Delicious	vest ^a	nd ^a	vest ^a	0,37 ± 0,01 ^e	5,23 ± 0,12 ^j	0,87 ± 0,02 ^k	nd ^a	vest ^a
	Fuji	3,64 ± 0,01 ^h	nd ^a	3,28 ± 0,00 ^h	0,54 ± 0,01 ^k	3,14 ± 0,00 ^c	0,80 ± 0,01 ^{hij}	nd ^a	vest ^a
	Reineta Parda	0,11 ± 0,00 ^b	nd ^a	0,10 ± 0,00 ^b	0,39 ± 0,00 ^{ef}	4,43 ± 0,01 ⁱ	0,77 ± 0,00 ^{hi}	nd ^a	2,00 ± 0,00 ^d
	Royal Gala	0,16 ± 0,00 ^b	nd ^a	0,14 ± 0,00 ^b	0,49 ± 0,00 ^j	3,92 ± 0,04 ^g	0,81 ± 0,00 ^{ij}	nd ^a	nd ^a
	Média	1,05 ± 0,00	nd	0,95 ± 0,00	0,40 ± 0,00	3,72 ± 0,03	0,73 ± 0,01	nd	0,33 ± 0,00

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de ácido cafeico.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Flavanol (catequina) 1*			Procianidina 1*			Ácido hidroxibenzoico 1*			
	(1)			(2)			(3)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	nd ^a	2,93 ± 0,00 ^e	0,30 ± 0,00^f	vest ^a	nd ^a	vest ^a	nd ^a	0,71 ± 0,01 ^c	0,07 ± 0,00 ^c
	Pardo Lindo	nd ^a	vest ^a	vest ^a	5,39 ± 0,02 ^l	11,49 ± 0,30^g	5,93 ± 0,05 ^j	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Querina	nd ^a	vest ^a	vest ^a	0,99 ± 0,03 ^e	vest ^a	0,87 ± 0,03 ^{de}	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Pipo de Basto	nd ^a	vest ^a	vest ^a	2,79 ± 0,05 ⁱ	4,15 ± 0,00 ^d	2,97 ± 0,04 ^h	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Maçã Verdeal	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a	vest^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Maçã Espelho	nd ^a	2,61 ± 0,02 ^d	0,16 ± 0,00 ^b	vest^a	2,63 ± 0,02 ^b	0,17 ± 0,00 ^a	nd ^a	0,72 ± 0,03 ^c	0,05 ± 0,00 ^b
	Casa Nova Alcobaça	nd ^a	2,34 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,00 ^e	1,13 ± 0,01 ^f	vest ^a	0,99 ± 0,01 ^e	nd ^a	0,61 ± 0,00 ^b	0,08 ± 0,00 ^c
	Camoesa da Azoia	nd ^a	3,21 ± 0,02^f	0,27 ± 0,00 ^d	0,74 ± 0,00 ^d	vest ^a	0,68 ± 0,00 ^{cd}	nd ^a	1,62 ± 0,04^d	0,14 ± 0,00^d
	Maçã Cunha	nd ^a	vest ^a	vest ^a	1,36 ± 0,04 ^g	2,37 ± 0,04 ^b	1,50 ± 0,03 ^f	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Maçã Branca	nd ^a	nd^a	nd^a	3,44 ± 0,01 ^k	5,16 ± 0,02 ^e	3,62 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Bravo de Esmolfe	nd ^a	vest ^a	vest ^a	6,55 ± 0,09^m	5,45 ± 0,02 ^e	6,42 ± 0,08^k	nd ^a	nd^a	nd^a
Média	nd	1,01 ± 0,00	0,09 ± 0,00	2,03 ± 0,02	2,84 ± 0,04	2,10 ± 0,02	nd	0,33 ± 0,01	0,03 ± 0,00	
EXTÓTICAS	Starking	nd ^a	vest ^a	vest ^a	0,26 ± 0,01 ^b	2,52 ± 0,02 ^b	0,27 ± 0,00 ^{ab}	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Jonagold	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Golden Delicious	nd ^a	2,46 ± 0,03 ^c	0,25 ± 0,00 ^c	vest ^a	nd ^a	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Fuji	nd ^a	nd ^a	nd ^a	1,76 ± 0,02 ^h	2,60 ± 0,03 ^b	1,84 ± 0,02 ^g	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Reineta Parda	nd ^a	nd ^a	nd ^a	3,22 ± 0,01 ^j	7,14 ± 0,02 ^f	3,60 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Royal Gala	nd ^a	vest ^a	vest ^a	0,40 ± 0,00 ^c	3,48 ± 0,02 ^c	0,50 ± 0,26 ^{bc}	nd ^a	vest ^a	vest ^a
Média	nd	0,41 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,94 ± 0,01	2,62 ± 0,01	1,04 ± 0,05	nd	vest	vest	

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).
* Composto específico não escrutinado.
(1) Expresso em mg de (+)-catequina; (2) Expresso em mg de Procianidina B2; (3) Expresso em mg de ácido gálico.
Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	(+)-Catequina			Ácido clorogénico			Ácido cafeico			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	0,19 ± 0,00 ^b	0,64 ± 0,00 ^a	0,24 ± 0,00 ^d	4,13 ± 0,01 ^c	7,45 ± 0,10 ⁱ	4,47 ± 0,00 ^e	0,21 ± 0,00 ^b	vest ^a	0,19 ± 0,00 ^b
	Pardo Lindo	1,83 ± 0,00 ^h	5,21 ± 0,42 ^f	2,13 ± 0,04 ^k	13,58 ± 0,01 ⁱ	33,71 ± 0,35 ^m	15,37 ± 0,04 ^k	0,67 ± 0,01 ^f	1,07 ± 0,00 ^f	0,70 ± 0,01 ^h
	Querina	vest ^a	2,87 ± 0,04 ^c	0,33 ± 0,00 ^e	4,76 ± 0,19 ^d	4,54 ± 0,02 ^e	4,74 ± 0,17 ^e	2,17 ± 0,00 ^k	vest ^a	1,92 ± 0,00 ^m
	Pipo de Basto	1,44 ± 0,00 ^g	4,98 ± 0,01 ^{ef}	1,90 ± 0,00 ^j	4,18 ± 0,00 ^c	1,26 ± 0,01 ^a	3,80 ± 0,00 ^d	1,83 ± 0,02 ^j	vest ^a	1,59 ± 0,01 ^l
	Maçã Verdeal	vest ^a	1,53 ± 0,01 ^b	0,17 ± 0,00 ^{bc}	6,32 ± 0,03 ^e	7,32 ± 0,01 ⁱ	6,43 ± 0,03 ^f	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Maçã Espelho	vest ^a	7,97 ± 0,14 ^h	0,50 ± 0,01 ^f	11,20 ± 0,05 ^h	6,55 ± 0,01 ^g	10,91 ± 0,04 ⁱ	0,99 ± 0,06 ^h	1,07 ± 0,01 ^f	1,00 ± 0,05 ^j
	Casa Nova Alcobaça	vest ^a	6,93 ± 0,02 ^g	0,85 ± 0,00 ^h	2,23 ± 0,00 ^b	5,67 ± 0,05 ^f	2,66 ± 0,00 ^c	0,47 ± 0,01 ^e	0,54 ± 0,01 ^b	0,48 ± 0,01 ^f
	Camoesa da Azoia	0,27 ± 0,00 ^c	0,85 ± 0,00 ^a	0,32 ± 0,00 ^e	15,52 ± 0,14 ^k	10,03 ± 0,12 ^j	15,06 ± 0,12 ^k	0,81 ± 0,00 ^g	0,87 ± 0,01 ^e	0,82 ± 0,00 ⁱ
	Maçã Cunha	vest ^a	0,68 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,00 ^a	4,73 ± 0,05 ^d	3,17 ± 0,04 ^c	4,52 ± 0,05 ^e	0,68 ± 0,01 ^f	0,62 ± 0,01 ^c	0,67 ± 0,01 ^{gh}
	Maçã Branca	0,36 ± 0,00 ^d	5,24 ± 0,01 ^f	0,89 ± 0,00 ^h	18,72 ± 0,09 ^l	7,22 ± 0,02 ^{hi}	17,48 ± 0,08 ^l	1,26 ± 0,02 ⁱ	0,67 ± 0,00 ^d	1,19 ± 0,02 ^k
	Bravo de Esmolfe	2,61 ± 0,01 ⁱ	3,83 ± 0,03 ^d	2,75 ± 0,02 ^l	7,04 ± 0,01 ^f	4,90 ± 0,03 ^e	6,79 ± 0,01 ^g	0,42 ± 0,01 ^{de}	vest ^a	0,38 ± 0,01 ^{de}
Média	0,61 ± 0,00	3,70 ± 0,06	0,92 ± 0,01	8,40 ± 0,05	8,35 ± 0,07	8,38 ± 0,05	0,86 ± 0,01	0,44 ± 0,00	0,81 ± 0,01	
EXTÓTICAS	Starking	0,56 ± 0,00 ^f	4,55 ± 0,01 ^e	0,99 ± 0,00 ⁱ	1,63 ± 0,00 ^a	2,02 ± 0,00 ^b	1,67 ± 0,00 ^a	0,43 ± 0,00 ^e	vest ^a	0,38 ± 0,00 ^e
	Jonagold	vest ^a	1,53 ± 0,00 ^b	0,16 ± 0,00 ^b	7,69 ± 0,03 ^g	4,44 ± 0,13 ^e	7,36 ± 0,04 ^h	0,36 ± 0,00 ^{cd}	vest ^a	0,32 ± 0,00 ^{cd}
	Golden Delicious	vest ^a	0,61 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,00 ^a	7,19 ± 0,05 ^f	6,80 ± 0,02 ^{gh}	7,15 ± 0,04 ^h	0,30 ± 0,00 ^c	vest ^a	0,27 ± 0,00 ^c
	Fuji	0,44 ± 0,02 ^e	1,56 ± 0,01 ^b	0,55 ± 0,02 ^g	13,94 ± 0,19 ^{ij}	11,26 ± 0,29 ^k	13,68 ± 0,20 ^j	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Reineta Parda	vest ^a	4,84 ± 0,01 ^{ef}	0,46 ± 0,00 ^f	25,39 ± 0,11 ^m	30,90 ± 0,05 ^l	25,91 ± 0,10 ^m	0,70 ± 0,01 ^f	vest ^a	0,63 ± 0,01 ^g
	Royal Gala	0,17 ± 0,00 ^b	0,59 ± 0,00 ^a	0,21 ± 0,00 ^{cd}	2,06 ± 0,02 ^b	3,89 ± 0,01 ^d	2,23 ± 0,02 ^b	0,44 ± 0,01 ^e	0,64 ± 0,00 ^c	0,46 ± 0,00 ^f
Média	0,20 ± 0,00	2,28 ± 0,01	0,41 ± 0,00	9,65 ± 0,07	9,88 ± 0,09	9,67 ± 0,07	0,37 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,34 ± 0,00	
nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado). Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.										

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Flavanol (catequina) 2* (1)			Procianidina B2			Antocianina 1* (2)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	1,27 ± 0,00 ^h	nd ^a	1,14 ± 0,00 ⁱ	11,44 ± 0,01 ^k	31,01 ± 0,30 ^h	13,45 ± 0,04 ^k	nd ^a	0,65 ± 0,00 ^b	0,07 ± 0,00 ^b
	Pardo Lindo	2,30 ± 0,06 ⁱ	nd ^a	2,09 ± 0,05 ^j	18,07 ± 0,19 ⁿ	22,18 ± 0,19 ^e	18,44 ± 0,19 ^l	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Querina	0,49 ± 0,00 ^b	nd ^a	0,43 ± 0,00 ^c	5,62 ± 0,04 ^f	18,86 ± 0,10 ^c	7,14 ± 0,05 ^{ef}	nd ^a	1,30 ± 0,00 ^d	0,15 ± 0,00 ^c
	Pipo de Basto	1,01 ± 0,04 ^f	nd ^a	0,88 ± 0,04 ^g	9,85 ± 0,07 ^j	19,73 ± 0,05 ^{de}	11,14 ± 0,07 ^j	nd ^a	0,64 ± 0,00 ^b	0,08 ± 0,00 ^b
	Maçã Verdeal	vest ^a	nd ^a	0,27 ± 0,00 ^b	2,58 ± 0,00 ^a	5,32 ± 0,02 ^b	2,88 ± 0,00 ^b	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Maçã Espelho	nd ^a	nd ^a	nd ^a	4,97 ± 0,03 ^d	41,35 ± 0,02 ^j	7,26 ± 0,03 ^f	nd ^a	1,30 ± 0,00 ^d	0,08 ± 0,00 ^b
	Casa Nova Alcobaça	0,76 ± 0,05 ^{cd}	nd ^a	0,66 ± 0,04 ^{de}	6,87 ± 0,01 ⁱ	24,38 ± 0,53 ^f	9,03 ± 0,05 ^h	nd ^a	1,94 ± 0,02 ^f	0,24 ± 0,00 ^g
	Camoesa da Azoia	0,67 ± 0,01 ^c	nd ^a	0,62 ± 0,01 ^d	5,85 ± 0,04 ^f	20,76 ± 0,13 ^{de}	7,09 ± 0,03 ^{ef}	nd ^a	1,94 ± 0,02 ^f	0,16 ± 0,00 ^e
	Maçã Cunha	nd ^a	nd ^a	nd ^a	2,40 ± 0,03 ^a	3,70 ± 0,03 ^a	2,57 ± 0,02 ^a	nd ^a	2,49 ± 0,02 ^g	0,33 ± 0,00 ⁱ
	Maçã Branca	2,29 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	2,04 ± 0,01 ^j	18,13 ± 0,04 ⁿ	44,79 ± 0,18 ^l	21,00 ± 0,02 ^m	nd ^a	1,68 ± 0,01 ^e	0,18 ± 0,00 ^f
	Bravo de Esmolfe	1,15 ± 0,01 ^g	nd ^a	1,01 ± 0,01 ^h	12,18 ± 0,03 ^l	21,80 ± 1,41 ^e	13,28 ± 0,19 ^k	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Média	0,90 ± 0,02	nd	0,83 ± 0,02	8,90 ± 0,05	23,08 ± 0,27	10,30 ± 0,06	nd	0,85 ± 0,01	0,12 ± 0,00
EXTÓTICAS	Starking	0,83 ± 0,01 ^{de}	nd ^a	0,74 ± 0,01 ^{ef}	6,20 ± 0,00 ^g	38,54 ± 0,30 ⁱ	9,71 ± 0,03 ⁱ	nd ^a	4,72 ± 0,01 ⁱ	0,51 ± 0,00 ^j
	Jonagold	0,41 ± 0,01 ^b	nd ^a	0,37 ± 0,01 ^c	3,97 ± 0,02 ^c	26,60 ± 0,33 ^g	6,26 ± 0,01 ^d	nd ^a	5,07 ± 0,04 ^j	0,51 ± 0,00 ^j
	Golden Delicious	0,43 ± 0,00 ^b	nd ^a	0,39 ± 0,00 ^c	5,33 ± 0,09 ^e	20,67 ± 0,09 ^{de}	6,89 ± 0,07 ^e	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Fuji	vest ^a	nd ^a	0,24 ± 0,01 ^b	6,56 ± 0,09 ^h	22,21 ± 0,03 ^e	8,08 ± 0,08 ^g	nd ^a	0,83 ± 0,01 ^c	0,08 ± 0,00 ^b
	Reineta Parda	0,89 ± 0,01 ^e	nd ^a	0,81 ± 0,01 ^{fg}	15,61 ± 0,06 ^m	43,06 ± 0,20 ^k	18,23 ± 0,03 ^l	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Royal Gala	vest ^a	nd ^a	vest ^a	3,15 ± 0,01 ^b	24,59 ± 0,05 ^f	5,12 ± 0,02 ^c	nd ^a	3,38 ± 0,03 ^h	0,31 ± 0,00 ^h
	Média	0,43 ± 0,01	nd	0,43 ± 0,01	6,80 ± 0,05	29,28 ± 0,16	9,05 ± 0,04	nd	2,33 ± 0,01	0,24 ± 0,00

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de (+)-catequina; (2) Expresso em mg de ácido gálico.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)									
Variedades	Ácido hidroxibenzóico 2* (1)			(-)-Epicatequina			Antocianina 2* (1)		
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro
TRADICIONAIS	Porta da Loja	nd ^a	0,63 ± 0,01 ^b	0,06 ± 0,00 ^b	13,11 ± 0,04 ^j	38,83 ± 0,53 ^h	15,75 ± 0,09 ⁱ	nd ^a	nd ^a
	Pardo Lindo	nd ^a	0,90 ± 0,02 ^c	0,08 ± 0,00 ^{cd}	18,09 ± 0,01 ⁿ	68,85 ± 0,09 ^l	22,61 ± 0,02 ^p	nd ^a	nd ^a
	Querina	nd ^a	vest ^a	vest ^a	7,16 ± 0,02 ^h	30,96 ± 0,44 ^e	9,90 ± 0,07 ⁱ	nd ^a	nd ^a
	Pipo de Basto	nd ^a	vest ^a	vest ^a	17,57 ± 0,10 ^m	35,42 ± 0,08 ^f	19,90 ± 0,10 ⁿ	nd ^a	nd ^a
	Maçã Verdeal	nd ^a	vest ^a	vest ^a	3,58 ± 0,03 ^e	8,01 ± 0,20^a	4,07 ± 0,05 ^c	nd ^a	nd ^a
	Maçã Espelho	nd ^a	2,70 ± 0,02 ^g	0,17 ± 0,00 ^f	2,45 ± 0,05 ^c	59,83 ± 0,22 ^j	6,05 ± 0,06 ^f	nd ^a	nd ^a
	Casa Nova Alcobaça	nd ^a	2,62 ± 0,08 ^g	0,32 ± 0,01^h	5,62 ± 0,00 ^g	30,47 ± 0,41 ^{de}	8,68 ± 0,05 ^h	nd ^a	vest ^a
	Camoesa da Azoia	nd ^a	2,84 ± 0,02^h	0,24 ± 0,00 ^g	3,53 ± 0,02 ^e	22,64 ± 0,30 ^c	5,13 ± 0,04 ^e	nd ^a	vest ^a
	Maçã Cunha	nd ^a	2,45 ± 0,01 ^f	0,32 ± 0,00 ^h	0,92 ± 0,00^a	9,26 ± 0,02 ^a	2,02 ± 0,00^a	nd ^a	vest ^a
	Maçã Branca	nd ^a	1,29 ± 0,02 ^d	0,14 ± 0,00 ^e	13,42 ± 0,00 ^k	60,66 ± 0,04 ^j	18,52 ± 0,00 ^m	nd ^a	vest ^a
	Bravo de Esmolfe	nd ^a	vest ^a	vest ^a	21,16 ± 0,05^o	80,32 ± 0,68^m	27,91 ± 0,12^q	nd ^a	nd^a
	Média	nd	1,22 ± 0,02	0,12 ± 0,00	9,69 ± 0,03	40,48 ± 0,27	12,78 ± 0,06	nd	vest
EXTÓTICAS	Starking	nd ^a	vest ^a	vest ^a	9,90 ± 0,02 ⁱ	49,87 ± 0,66 ⁱ	14,24 ± 0,09 ^k	nd ^a	vest ^a
	Jonagold	nd ^a	0,91 ± 0,02 ^c	0,09 ± 0,00 ^d	2,24 ± 0,01 ^b	16,21 ± 0,02 ^b	3,65 ± 0,01 ^b	nd ^a	0,66 ± 0,00^b
	Golden Delicious	nd ^a	nd^a	nd^a	4,32 ± 0,02 ^f	29,63 ± 0,04 ^d	6,89 ± 0,02 ^g	nd ^a	nd ^a
	Fuji	nd ^a	0,72 ± 0,00 ^b	0,07 ± 0,00 ^{bc}	7,31 ± 0,09 ^h	37,52 ± 0,06 ^g	10,25 ± 0,07 ^j	nd ^a	nd ^a
	Reineta Parda	nd ^a	1,43 ± 0,02 ^e	0,14 ± 0,00 ^e	17,00 ± 0,11 ^l	66,76 ± 0,04 ^k	21,74 ± 0,10 ^o	nd ^a	nd ^a
	Royal Gala	nd ^a	vest ^a	vest ^a	2,90 ± 0,03 ^d	22,54 ± 0,02 ^c	4,70 ± 0,03 ^d	nd ^a	vest ^a
	Média	nd	0,51 ± 0,01	0,05 ± 0,00	7,28 ± 0,05	37,09 ± 0,14	10,25 ± 0,05	nd	0,11 ± 0,00

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de ácido gálico.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Ácido p-cumárico			Flavanol (catequina) 3* (1)			Flavanol (catequina) 4* (1)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	vest ^a	vest ^a	0,00 ± 0,00 ^a	5,36 ± 0,01 ^h	13,62 ± 0,23 ⁱ	6,21 ± 0,02 ⁱ	4,47 ± 0,05 ^l	9,50 ± 0,11 ^h	4,98 ± 0,03 ⁿ
	Pardo Lindo	2,16 ± 0,02 ^l	4,77 ± 0,01 ^g	2,39 ± 0,02 ^j	6,78 ± 0,03 ^k	10,42 ± 0,05 ^g	7,10 ± 0,03 ^l	3,34 ± 0,02 ^j	9,28 ± 0,02 ^h	3,87 ± 0,02 ^l
	Querina	vest ^a	vest ^a	vest ^a	1,43 ± 0,01 ^d	8,19 ± 0,05 ^d	2,21 ± 0,00 ^e	1,77 ± 0,04 ^g	5,94 ± 0,02 ^d	2,25 ± 0,03 ^h
	Pipo de Basto	0,14 ± 0,02 ^{bc}	vest ^a	0,13 ± 0,01 ^b	2,94 ± 0,03 ^g	8,21 ± 0,05 ^d	3,63 ± 0,02 ^h	2,68 ± 0,01 ⁱ	5,22 ± 0,01 ^c	3,01 ± 0,01 ^j
	Maçã Verdeal	vest ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a	2,12 ± 0,03 ^a	0,24 ± 0,00 ^a	0,66 ± 0,01 ^b	1,24 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,01 ^b
	Maçã Espelho	2,00 ± 0,00 ^k	1,62 ± 0,05 ^e	1,98 ± 0,00 ⁱ	vest ^a	15,46 ± 0,00 ^j	0,97 ± 0,00 ^c	1,49 ± 0,01 ^f	9,16 ± 0,03 ^h	1,98 ± 0,01 ^f
	Casa Nova Alcobaça	0,53 ± 0,00 ^g	1,25 ± 0,01 ^c	0,62 ± 0,00 ^f	1,45 ± 0,03 ^d	10,19 ± 0,04 ^g	2,53 ± 0,02 ^g	1,39 ± 0,03 ^e	7,12 ± 0,06 ^f	2,09 ± 0,02 ^g
	Camoesa da Azoia	0,68 ± 0,01 ^h	vest ^a	0,62 ± 0,01 ^f	1,51 ± 0,03 ^{de}	9,66 ± 0,01 ^{ef}	2,19 ± 0,03 ^e	2,34 ± 0,00 ^h	6,18 ± 0,01 ^{de}	2,66 ± 0,00 ⁱ
	Maçã Cunha	0,36 ± 0,01 ^f	vest ^a	0,31 ± 0,01 ^e	vest ^a	1,85 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,00 ^a	0,30 ± 0,00 ^a	0,97 ± 0,07 ^a	0,39 ± 0,01 ^a
	Maçã Branca	3,06 ± 0,00 ^m	3,00 ± 0,00 ^f	3,06 ± 0,00 ^k	5,93 ± 0,02 ^j	16,05 ± 0,03 ^k	7,02 ± 0,02 ^k	5,16 ± 0,01 ^m	11,81 ± 0,01 ^j	5,88 ± 0,01 ^p
	Bravo de Esmolfe	1,01 ± 0,00 ⁱ	0,61 ± 0,01 ^b	0,97 ± 0,00 ^g	5,55 ± 0,00 ⁱ	12,58 ± 0,32 ^h	6,35 ± 0,04 ^j	4,12 ± 0,02 ^k	8,18 ± 0,12 ^g	4,59 ± 0,01 ^m
	Média	0,90 ± 0,01	1,02 ± 0,01	0,92 ± 0,00	2,81 ± 0,01	9,85 ± 0,07	3,52 ± 0,02	2,52 ± 0,02	6,78 ± 0,04	2,95 ± 0,01
EXTÓTICAS	Starking	0,38 ± 0,01 ^f	vest ^a	0,34 ± 0,01 ^e	2,22 ± 0,01 ^f	15,70 ± 0,04 ^{jk}	3,69 ± 0,01 ^h	2,25 ± 0,02 ^h	10,04 ± 0,01 ⁱ	3,10 ± 0,02 ^k
	Jonagold	0,12 ± 0,00 ^b	vest ^a	0,10 ± 0,00 ^b	0,54 ± 0,03 ^b	5,02 ± 0,08 ^b	0,99 ± 0,02 ^c	1,38 ± 0,00 ^e	3,54 ± 0,01 ^b	1,60 ± 0,00 ^e
	Golden Delicious	0,15 ± 0,01 ^c	vest ^a	0,13 ± 0,01 ^b	1,01 ± 0,03 ^c	9,48 ± 0,04 ^e	1,87 ± 0,03 ^d	1,40 ± 0,04 ^{ef}	6,47 ± 0,30 ^e	1,92 ± 0,00 ^f
	Fuji	0,18 ± 0,01 ^d	vest ^a	0,16 ± 0,01 ^c	1,55 ± 0,03 ^e	10,09 ± 0,05 ^{fg}	2,38 ± 0,02 ^f	0,98 ± 0,04 ^d	6,07 ± 0,04 ^d	1,48 ± 0,04 ^d
	Reineta Parda	1,56 ± 0,00 ^j	1,34 ± 0,00 ^d	1,54 ± 0,00 ^h	5,88 ± 0,03 ^j	19,92 ± 0,21 ^l	7,22 ± 0,01 ^m	4,17 ± 0,03 ^k	13,68 ± 0,13 ^k	5,07 ± 0,01 ^o
	Royal Gala	0,28 ± 0,00 ^e	vest ^a	0,26 ± 0,00 ^d	vest ^a	6,18 ± 0,13 ^c	0,57 ± 0,01 ^b	0,83 ± 0,04 ^c	3,67 ± 0,03 ^b	1,09 ± 0,03 ^c
	Média	0,44 ± 0,00	0,22 ± 0,00	0,42 ± 0,00	1,87 ± 0,02	11,07 ± 0,09	2,79 ± 0,02	1,84 ± 0,03	7,25 ± 0,09	2,38 ± 0,02

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de (+)-catequina.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Flavanol (catequina) 5* (1)			Antocianina 3* (2)			Flavanol (catequina) 6* (1)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	3,99 ± 0,03 ^h	8,09 ± 0,04 ^j	4,41 ± 0,02 ^k	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,73 ± 0,05 ^{bc}	nd ^a	0,66 ± 0,05 ^{bcd}
	Pardo Lindo	4,38 ± 0,05 ⁱ	7,02 ± 0,07 ⁱ	4,61 ± 0,05 ^l	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,90 ± 0,04 ^c	vest ^a	0,82 ± 0,03 ^{cd}
	Querina	1,42 ± 0,05 ^d	6,09 ± 0,06 ^h	1,96 ± 0,05 ^{ef}	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a
	Pipo de Basto	2,22 ± 0,02 ^f	4,37 ± 0,08 ^e	2,50 ± 0,03 ^g	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,38 ± 0,54 ^{abc}	vest ^a	0,33 ± 0,47 ^{abc}
	Maçã Verdeal	0,46 ± 0,02 ^a	1,17 ± 0,01 ^b	0,54 ± 0,02 ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a
	Maçã Espelho	1,43 ± 0,04 ^d	9,23 ± 0,12 ^k	1,92 ± 0,05 ^e	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,89 ± 0,03 ^{bc}	3,10 ± 0,01 ^f	1,03 ± 0,03 ^d
	Casa Nova Alcobaça	1,44 ± 0,06 ^d	6,57 ± 0,13 ^{hi}	2,07 ± 0,06 ^f	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	1,59 ± 0,05 ^e	0,20 ± 0,01 ^{abc}
	Camoesa da Azoia	1,83 ± 0,02 ^e	5,04 ± 0,08 ^{fg}	2,10 ± 0,01 ^f	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,39 ± 0,01 ^{abc}	vest ^a	0,35 ± 0,01 ^{abc}
	Maçã Cunha	0,49 ± 0,01 ^{ab}	0,29 ± 0,41 ^a	0,46 ± 0,05 ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	0,74 ± 0,00 ^b	0,10 ± 0,00 ^{ab}
	Maçã Branca	4,29 ± 0,03 ⁱ	9,28 ± 0,05 ^k	4,83 ± 0,04 ^m	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,74 ± 0,00 ^{bc}	1,41 ± 0,00 ^d	0,81 ± 0,00 ^{cd}
	Bravo de Esmolfe	3,44 ± 0,00 ^g	7,61 ± 0,07 ^j	3,92 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,23 ± 0,32 ^{abc}	vest ^a	0,20 ± 0,28 ^{abc}
Média	2,31 ± 0,03	5,89 ± 0,10	2,66 ± 0,04	nd	nd	nd	0,39 ± 0,09	0,62 ± 0,01	0,41 ± 0,08	
EXTÓTICAS	Starking	2,24 ± 0,05 ^f	8,91 ± 0,05 ^k	2,96 ± 0,05 ^h	nd ^a	nd ^a	nd ^a	0,50 ± 0,39 ^{abc}	0,75 ± 0,01 ^{bc}	0,53 ± 0,35 ^{abcd}
	Jonagold	1,16 ± 0,01 ^c	3,47 ± 0,03 ^d	1,39 ± 0,01 ^c	nd ^a	0,55 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,00 ^c	0,17 ± 0,01 ^{ab}	vest ^a	0,15 ± 0,01 ^{ab}
	Golden Delicious	1,22 ± 0,04 ^c	5,35 ± 0,05 ^g	1,64 ± 0,03 ^d	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a
	Fuji	1,41 ± 0,01 ^d	4,78 ± 0,07 ^{ef}	1,74 ± 0,01 ^d	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a
	Reineta Parda	3,33 ± 0,05 ^g	11,37 ± 0,07 ^l	4,10 ± 0,04 ^j	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Royal Gala	0,61 ± 0,01 ^b	2,76 ± 0,04 ^c	0,81 ± 0,01 ^b	nd ^a	vest ^a	vest ^a	vest ^a	0,78 ± 0,01 ^c	0,07 ± 0,00 ^{ab}
Média	1,66 ± 0,03	6,11 ± 0,05	2,11 ± 0,02	nd	0,09 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,11 ± 0,07	0,26 ± 0,00	0,13 ± 0,06	

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de (+)-catequina; (2) Expresso em mg de ácido gálico.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Flavanol (catequina) 7* (1)			Flavanol 1* (2)			Flavanol 2* (2)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	nd ^a	2,81 ± 0,07 ^e	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	2,76 ± 0,06 ^f	0,28 ± 0,01 ^d
	Pardo Lindo	nd ^a	nd ^a	vest ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	2,28 ± 0,00 ^e	0,20 ± 0,00 ^c
	Querina	nd ^a	1,28 ± 0,03 ^{bc}	vest ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	1,78 ± 0,03 ^d	0,21 ± 0,00 ^c
	Pipo de Basto	nd ^a	nd ^a	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a
	Maçã Verdeal	nd ^a	3,81 ± 0,06 ^f	vest ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	3,06 ± 0,01 ^g	0,34 ± 0,00 ^e
	Maçã Espelho	nd ^a	1,06 ± 0,06 ^b	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	6,20 ± 0,01 ^h	0,39 ± 0,00 ^f
	Casa Nova Alcobaça	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	1,08 ± 0,03 ^{cd}	0,13 ± 0,00 ^{de}	nd ^a	31,24 ± 0,00 ^p	3,85 ± 0,00 ⁿ
	Camoesa da Azoia	nd ^a	1,91 ± 0,03 ^{bc}	vest ^a	nd ^a	4,75 ± 0,05 ^e	0,40 ± 0,00 ^f	nd ^a	25,49 ± 0,13 ^o	2,13 ± 0,01 ^m
	Maçã Cunha	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	7,68 ± 0,12 ^j	1,02 ± 0,02 ^h
	Maçã Branca	nd ^a	1,14 ± 0,11 ^b	vest ^a	nd ^a	0,76 ± 0,01 ^{bc}	0,08 ± 0,00 ^{bc}	nd ^a	18,87 ± 0,01 ⁿ	2,04 ± 0,00 ^l
	Bravo de Esmolfe	nd ^a	4,81 ± 0,08 ^g	vest ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a	1,01 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,00 ^b
	Média	nd	1,53 ± 0,04	vest	nd	0,60 ± 0,01	0,06 ± 0,00	nd	9,12 ± 0,03	0,96 ± 0,00
EXTÓTICAS	Starking	nd ^a	2,43 ± 0,03 ^{de}	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	1,81 ± 0,00 ^d	0,20 ± 0,00 ^c
	Jonagold	nd ^a	2,69 ± 0,04 ^{de}	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	12,35 ± 0,03 ^k	1,25 ± 0,00 ⁱ
	Golden Delicious	nd ^a	2,43 ± 0,01 ^{de}	vest ^a	nd ^a	0,35 ± 0,50 ^{ab}	0,04 ± 0,05 ^{ab}	nd ^a	13,44 ± 0,00 ^l	1,37 ± 0,00 ^j
	Fuji	nd ^a	nd ^a	vest ^a	nd ^a	1,52 ± 0,00 ^d	0,15 ± 0,00 ^e	nd ^a	14,87 ± 0,04 ^m	1,45 ± 0,00 ^k
	Reineta Parda	nd ^a	2,14 ± 0,89 ^{cde}	vest ^a	nd ^a	0,98 ± 0,01 ^c	0,09 ± 0,00 ^{cd}	nd ^a	6,92 ± 0,01 ⁱ	0,66 ± 0,00 ^g
	Royal Gala	nd ^a	vest ^a	vest ^a	nd ^a	vest ^a	vest a	nd ^a	1,46 ± 0,01 ^c	0,13 ± 0,00 ^b
Média	nd	1,61 ± 0,16	0,00 ± 0,02	nd	0,48 ± 0,08	0,05 ± 0,01	nd	8,47 ± 0,02	0,84 ± 0,00	

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de (+)-catequina; (2) Expresso em mg de quercetina.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Isoquercitrina			Flavonol 3* (1)			Floretina derivado 1* (2)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	vest ^a	1,90 ± 0,03 ^d	0,20 ± 0,00 ^c	nd ^a	1,57 ± 0,02 ^d	0,16 ± 0,00 ^{bc}	1,35 ± 0,01 ^j	5,38 ± 0,09 ^j	1,76 ± 0,00 ^j
	Pardo Lindo	vest ^a	1,30 ± 0,00 ^c	0,12 ± 0,00 ^b	nd ^a	2,78 ± 0,02 ^f	0,25 ± 0,00 ^e	4,84 ± 0,04 ^o	17,83 ± 0,06 ^p	6,00 ± 0,04 ^o
	Querina	0,13 ± 0,00 ^b	0,74 ± 0,01 ^{ab}	0,20 ± 0,00 ^c	nd ^a	1,47 ± 0,00 ^d	0,17 ± 0,00 ^c	0,65 ± 0,01 ^d	2,60 ± 0,00 ^d	0,88 ± 0,00 ^d
	Pipo de Basto	0,13 ± 0,00 ^b	0,72 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,00 ^c	nd ^a	0,77 ± 0,00 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	2,60 ± 0,02 ^m	13,72 ± 0,01 ^o	4,05 ± 0,02 ^m
	Maçã Verdeal	0,18 ± 0,00 ^c	2,90 ± 0,02 ^f	0,48 ± 0,00 ^g	nd ^a	1,31 ± 0,02 ^c	0,15 ± 0,00 ^b	0,43 ± 0,01 ^b	3,00 ± 0,00 ^e	0,72 ± 0,01 ^c
	Maçã Espelho	0,63 ± 0,00 ^d	7,55 ± 0,00 ^j	1,06 ± 0,00 ⁱ	nd ^a	4,04 ± 0,01 ⁱ	0,25 ± 0,00 ^e	1,27 ± 0,02 ⁱ	4,72 ± 0,07 ^h	1,49 ± 0,01 ^h
	Casa Nova Alcobaça	0,72 ± 0,01 ^f	10,02 ± 0,00 ^k	1,87 ± 0,01 ^k	nd ^a	9,13 ± 0,13 ^m	1,13 ± 0,02 ⁱ	0,74 ± 0,01 ^e	3,43 ± 0,04 ^f	1,07 ± 0,01 ^e
	Camoesa da Azoia	vest ^a	10,77 ± 0,15 ^l	0,90 ± 0,01 ^h	nd ^a	6,93 ± 0,04 ^k	0,58 ± 0,00 ^h	1,19 ± 0,01 ^h	2,23 ± 0,00 ^c	1,28 ± 0,01 ^{fg}
	Maçã Cunha	vest ^a	1,87 ± 0,03 ^d	0,25 ± 0,00 ^d	nd ^a	1,82 ± 0,04 ^e	0,24 ± 0,00 ^e	0,40 ± 0,01 ^b	vest ^a	0,35 ± 0,01 ^b
	Maçã Branca	0,65 ± 0,00 ^e	7,12 ± 0,03 ⁱ	1,35 ± 0,01 ⁱ	nd ^a	8,81 ± 0,04 ^l	1,14 ± 0,01 ⁱ	1,47 ± 0,00 ^k	5,01 ± 0,01 ⁱ	1,85 ± 0,00 ^k
	Bravo de Esmolfe	nd ^a	0,96 ± 0,14 ^b	0,11 ± 0,02 ^b	nd ^a	1,52 ± 0,03 ^d	0,17 ± 0,00 ^c	1,09 ± 0,00 ^g	6,18 ± 0,07 ^l	1,67 ± 0,01 ⁱ
Média	0,22 ± 0,00	4,17 ± 0,04	0,61 ± 0,00	nd	3,65 ± 0,03	0,40 ± 0,00	1,46 ± 0,01	5,83 ± 0,03	1,92 ± 0,01	
EXTÓTICAS	Starking	vest ^a	0,68 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,00 ^a	nd ^a	1,78 ± 0,02 ^e	0,19 ± 0,00 ^d	vest ^a	1,92 ± 0,00 ^b	0,21 ± 0,00 ^a
	Jonagold	vest ^a	3,63 ± 0,00 ^g	0,37 ± 0,00 ^e	nd ^a	3,49 ± 0,00 ^g	0,35 ± 0,00 ^f	1,65 ± 0,02 ^l	6,57 ± 0,07 ^m	2,15 ± 0,02 ^l
	Golden Delicious	vest ^a	0,71 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,00 ^a	nd ^a	3,42 ± 0,02 ^g	0,35 ± 0,00 ^f	0,85 ± 0,01 ^f	5,57 ± 0,01 ^k	1,33 ± 0,01 ^g
	Fuji	vest ^a	4,31 ± 0,09 ^h	0,42 ± 0,01 ^f	nd ^a	5,30 ± 0,02 ^j	0,52 ± 0,00 ^g	0,53 ± 0,01 ^c	1,93 ± 0,00 ^b	0,67 ± 0,01 ^c
	Reineta Parda	vest ^a	2,50 ± 0,04 ^e	0,24 ± 0,00 ^d	nd ^a	3,74 ± 0,01 ^h	0,36 ± 0,00 ^f	3,50 ± 0,03 ⁿ	10,62 ± 0,01 ⁿ	4,18 ± 0,03 ⁿ
	Royal Gala	vest ^a	0,66 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,00 ^a	nd ^a	0,96 ± 0,01 ^b	0,09 ± 0,00 ^a	0,89 ± 0,01 ^f	4,43 ± 0,00 ^g	1,21 ± 0,01 ^f
Média	vest	2,08 ± 0,02	0,21 ± 0,00	nd	3,12 ± 0,01	0,31 ± 0,00	1,24 ± 0,01	5,17 ± 0,02	1,63 ± 0,01	

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de quercetina; (2) Expresso em mg de floretina.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)										
Variedades	Flavonol 4* (1)			Quercitrina			Ácido hidroxicinâmico 4* (2)			
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	
TRADICIONAIS	Porta da Loja	vest ^a	2,95 ± 0,04 ^d	0,30 ± 0,00 ^e	0,45 ± 0,01 ^g	1,54 ± 0,06 ^c	0,56 ± 0,00 ^c	vest ^a	0,99 ± 0,01 ^{cde}	0,10 ± 0,00 ^{cdef}
	Pardo Lindo	vest ^a	4,35 ± 0,49 ^e	0,39 ± 0,04 ^f	1,73 ± 0,01 ⁱ	0,90 ± 0,00 ^a	1,65 ± 0,01 ^h	vest ^a	1,15 ± 0,13 ^{cde}	0,10 ± 0,01 ^{cdef}
	Querina	vest ^a	1,99 ± 0,04 ^{bc}	0,23 ± 0,00 ^{bcd}	0,22 ± 0,00 ^{bc}	5,85 ± 0,04 ^h	0,87 ± 0,01 ^f	vest ^a	1,29 ± 0,00 ^{de}	0,15 ± 0,00 ^f
	Pipo de Basto	vest ^a	0,81 ± 0,03 ^a	0,11 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,00 ^b	1,06 ± 0,05 ^{ab}	0,29 ± 0,01 ^a	vest ^a	0,97 ± 0,03 ^{cde}	0,13 ± 0,00 ^{ef}
	Maçã Verdeal	nd ^a	2,51 ± 0,07 ^{cd}	0,28 ± 0,01 ^{de}	0,28 ± 0,00 ^{de}	1,86 ± 0,04 ^d	0,46 ± 0,00 ^b	vest ^a	1,02 ± 0,00 ^{cde}	0,11 ± 0,00 ^{def}
	Maçã Espelho	vest ^a	7,63 ± 0,00 ^h	0,48 ± 0,00 ^g	nd ^a	6,79 ± 0,00 ⁱ	0,43 ± 0,00 ^b	vest ^a	0,83 ± 0,00 ^{bcd}	0,05 ± 0,00 ^{abc}
	Casa Nova Alcobaça	vest ^a	14,93 ± 0,21 ^k	1,84 ± 0,03 ^m	nd ^a	28,59 ± 0,19 ⁿ	3,52 ± 0,02 ⁱ	vest ^a	0,79 ± 0,02 ^{bc}	0,10 ± 0,00 ^{cdef}
	Camoesa da Azoia	nd ^a	11,16 ± 0,07 ^j	0,93 ± 0,01 ^k	nd ^a	10,90 ± 0,08 ^l	0,91 ± 0,01 ^f	vest ^a	1,44 ± 0,01 ^e	0,12 ± 0,00 ^{def}
	Maçã Cunha	vest ^a	4,23 ± 0,10 ^e	0,56 ± 0,01 ^h	0,32 ± 0,01 ^{ef}	3,51 ± 0,02 ^e	0,75 ± 0,01 ^e	vest ^a	vest ^a	0,00 ± 0,00 ^a
	Maçã Branca	0,22 ± 0,00 ^b	14,64 ± 0,03 ^k	1,77 ± 0,00 ^l	2,09 ± 0,00 ^j	23,55 ± 0,05 ^m	4,40 ± 0,00 ^j	vest ^a	0,82 ± 0,01 ^{bcd}	0,09 ± 0,00 ^{bcd}
	Bravo de Esmolfe	vest ^a	1,88 ± 0,03 ^b	0,21 ± 0,00 ^{bc}	0,22 ± 0,06 ^{bc}	4,10 ± 0,12 ^f	0,66 ± 0,04 ^d	vest ^a	0,93 ± 0,07 ^{cd}	0,11 ± 0,01 ^{def}
Média	0,02 ± 0,00	6,10 ± 0,10	0,65 ± 0,01	0,50 ± 0,01	8,06 ± 0,06	1,32 ± 0,01	vest	0,93 ± 0,03	0,10 ± 0,00	
EXTÓTICAS	Starking	vest ^a	2,43 ± 0,04 ^{bcd}	0,26 ± 0,00 ^{cde}	0,38 ± 0,00 ^f	1,24 ± 0,02 ^{bc}	0,47 ± 0,00 ^b	nd ^a	0,34 ± 0,49 ^{ab}	0,04 ± 0,05 ^{ab}
	Jonagold	vest ^a	6,32 ± 0,04 ^g	0,64 ± 0,00 ⁱ	nd ^a	8,70 ± 0,01 ^j	0,88 ± 0,00 ^f	vest ^a	1,00 ± 0,02 ^{cde}	0,10 ± 0,00 ^{cdef}
	Golden Delicious	vest ^a	5,18 ± 0,09 ^f	0,53 ± 0,01 ^{gh}	nd ^a	10,42 ± 0,18 ^k	1,06 ± 0,02 ^g	vest ^a	0,71 ± 0,02 ^{bc}	0,07 ± 0,00 ^{bcd}
	Fuji	nd ^a	8,40 ± 0,05 ⁱ	0,82 ± 0,00 ^j	0,20 ± 0,00 ^{bc}	8,84 ± 0,06 ^j	1,05 ± 0,00 ^g	vest ^a	0,96 ± 0,00 ^{cde}	0,09 ± 0,00 ^{cde}
	Reineta Parda	vest ^a	4,32 ± 0,00 ^e	0,41 ± 0,00 ^f	0,26 ± 0,01 ^{cd}	4,61 ± 0,04 ^g	0,67 ± 0,00 ^d	vest ^a	1,43 ± 0,00 ^e	0,14 ± 0,00 ^{ef}
	Royal Gala	nd ^a	1,94 ± 0,00 ^b	0,18 ± 0,00 ^b	0,69 ± 0,02 ^h	1,36 ± 0,03 ^{bc}	0,75 ± 0,01 ^e	vest ^a	0,77 ± 0,02 ^{bc}	0,07 ± 0,00 ^{bcd}
	Média	vest	4,76 ± 0,04	0,47 ± 0,00	0,25 ± 0,01	5,86 ± 0,06	0,81 ± 0,01	vest	0,87 ± 0,09	0,09 ± 0,01

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado).

* Composto específico não escrutinado.

(1) Expresso em mg de quercetina; (2) Expresso em mg de ácido cafeico.

Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tabela 4.4. (Continuação)

Concentração (mg/100 g)						
Variedades	Floridzina			Quercetina		
	Polpa	Casca	Fruto Inteiro	Polpa	Casca	Fruto Inteiro
TRADICIONAIS	Porta da Loja	0,67 ± 0,00 ^d	4,70 ± 0,08 ^d	1,08 ± 0,01 ^c	nd ^a	vest ^a
	Pardo Lindo	2,74 ± 0,01^j	61,81 ± 1,22^m	8,00 ± 0,12^l	vest ^a	0,74 ± 0,02 ^c
	Querina	0,77 ± 0,02 ^e	9,97 ± 0,07 ^{hi}	1,83 ± 0,01 ^g	vest ^a	0,83 ± 0,01 ^d
	Pipo de Basto	1,01 ± 0,03 ^g	12,55 ± 0,01 ^{gj}	2,52 ± 0,03 ^h	nd ^a	vest ^a
	Maçã Verdeal	0,51 ± 0,01^a	8,29 ± 0,01 ^{fg}	1,38 ± 0,01 ^{de}	nd^a	nd^a
	Maçã Espelho	0,94 ± 0,01 ^f	7,16 ± 0,01 ^{ef}	1,33 ± 0,01 ^d	nd ^a	vest ^a
	Casa Nova Alcobaça	0,81 ± 0,01 ^e	7,73 ± 0,10 ^{ef}	1,66 ± 0,01 ^f	0,12 ± 0,00 ^c	0,70 ± 0,01 ^b
	Camoesa da Azoia	0,78 ± 0,01 ^e	6,93 ± 0,04 ^e	1,29 ± 0,01 ^d	vest ^a	vest ^a
	Maçã Cunha	0,57 ± 0,00 ^{abc}	2,03 ± 0,08^a	0,76 ± 0,01^a	nd ^a	vest ^a
	Maçã Branca	1,73 ± 0,00 ^h	11,09 ± 0,04 ⁱ	2,74 ± 0,00 ⁱ	0,14 ± 0,00^d	0,96 ± 0,00^e
	Bravo de Esmolfe	0,62 ± 0,01 ^{cd}	2,87 ± 0,04 ^{ab}	0,88 ± 0,01 ^{ab}	vest ^a	vest ^a
	Média	1,01 ± 0,01	12,28 ± 0,15	2,13 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,29 ± 0,00
EXTÓTICAS	Starking	1,95 ± 0,00 ⁱ	17,76 ± 0,01 ^k	3,66 ± 0,00 ^j	nd ^a	vest ^a
	Jonagold	0,55 ± 0,01 ^{ab}	5,10 ± 0,03 ^d	1,01 ± 0,01 ^{bc}	vest ^a	0,71 ± 0,00 ^b
	Golden Delicious	0,57 ± 0,04 ^{abc}	9,39 ± 0,01 ^{gh}	1,47 ± 0,04 ^e	nd ^a	vest ^a
	Fuji	0,53 ± 0,03 ^{ab}	4,14 ± 0,01 ^{cd}	0,89 ± 0,03 ^{ab}	nd ^a	vest ^a
	Reineta Parda	1,89 ± 0,03 ⁱ	34,16 ± 0,02 ^l	4,96 ± 0,03 ^k	vest ^a	0,70 ± 0,00 ^b
	Royal Gala	0,60 ± 0,00 ^{bc}	3,47 ± 0,00 ^{bc}	0,86 ± 0,00 ^a	nd ^a	vest ^a
	Média	1,01 ± 0,02	12,34 ± 0,01	2,14 ± 0,02	vest	0,23 ± 0,00

nd – Composto não detetado na amostra. vest. – Composto detetado em quantidade inferior ao limite de quantificação. Fruto Inteiro (valor estimado). Médias designadas com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p < 0,05). Valores a negrito refletem o máximo e o mínimo.

Tal como foi já referido, a variedade *Pardo Lindo* mostrou ser aquela com maior teor de fenólicos na polpa ($101,70 \pm 0,51$ mg/100 g PF), seguida da *Maçã Branca* ($92,68 \pm 0,11$ mg/100 g PF) e da *Reineta Parda* ($92,44 \pm 0,42$ mg/100 g PF). Na casca, foi a *Reineta Parda* que mais se destacou ($306,88 \pm 0,36$ mg/100 g PF), seguindo-se a maçã *Pardo Lindo* ($298,21 \pm 2,53$ mg/100 g PF) e a *Maçã Branca* ($291,20 \pm 0,33$ mg/100 g PF). No extremo oposto, surgem as variedades *Royal Gala* ($15,03 \pm 0,14$ mg/100 g PF) na polpa, e *Maçã Cunha* ($58,98 \pm 0,10$ mg/100 g PF) na casca. A este respeito, há a ressaltar que a *Maçã Cunha* foi a variedade que apresentou a maior diferença no teor de fenólicos totais determinado pelos métodos Folin-Ciocalteu e HPCL-DAD, o que parece indiciar que esta variedade possui outros compostos – que não fenólicos ou flavonóides – nomeadamente carotenóides, que contribuem para elevar o poder redutor, mas que não foram detetados em HPLC-DAD.

Comparando as maçãs tradicionais e exóticas, e não considerando nesta análise a maçã *Reineta Parda*, sobressai que na polpa, no grupo das 10 variedades com maior teor de fenólicos, surge apenas uma cultivar exótica, a *Fuji*, com o sétimo teor mais elevado. Na casca, o cenário é semelhante, com apenas duas variedades exóticas, a *Starking* e a *Fuji*, em oitavo e nono lugar. Em termos médios as variedades tradicionais revelaram um teor de fenólicos superior ao das cultivares exóticas, quer na polpa ($51,66 \pm 0,20$ mg/100 g PF e $39,12 \pm 0,30$ mg/100 g PF, respetivamente) quer na casca ($179,32 \pm 0,88$ mg/100 g PF e $174,54 \pm 0,72$ mg/100 g PF, respetivamente). Contudo, a média das variedades exóticas beneficiou da elevada concentração de fenólicos que a *Reineta Parda* registou, para ambas as porções do fruto analisadas. De facto, se esta variedade fosse excluída do grupo das exóticas, o teor médio de fenólicos das variedades exóticas baixaria drasticamente para $28,46 \pm 0,27$ mg/100 g PF na polpa e $148,07 \pm 0,79$ mg/100 g PF na casca, o que representaria uma redução de 27,3% e 15,2%, respetivamente. Estes dados são corroborados pela análise estatística (teste de Tukey e homogeneidade das variâncias resultantes), que demonstrou que a variedade *Reineta Parda* está estatisticamente mais relacionada com o grupo das variedades tradicionais, do que com o grupo das exóticas. Esta consideração está associada ao teor significativamente superior ($p < 0,05$) que a variedade *Reineta Parda* demonstrou possuir em relação às restantes variedades exóticas, nos seguintes compostos: derivado de floretina 1 e fenólicos totais, na polpa; ácidos hicroxicinâmicos 2 e 4, procianidina 1 e ácido clorogénico, na casca; e ácido gálico, procianidina B2, (–)-epicatequina, flavanóis desconhecidos 3, 4 e 5, floretina e floridzina, simultaneamente na polpa e na casca. Analisando o teor de cada um dos compostos da variedade *Reineta Parda* e comparando-os com a média das variedades exóticas, depreende-se que a maçã *Reineta Parda* possui uma quantidade superior de todos os compostos analisados, com exceção dos seguintes: ácido hidroxicinâmico 1, (+)-catequina, isoquercitrina e ácido protocatecuico, na polpa; flavanol 1, ácidos hidroxibenzóicos 2 e 3, ácido cafeico, antocianinas 1, 2 e 3, flavonóis 2 e 4 e quercitrina, na casca; e flavanol 6, (–)-epicatequina-3-galato e ácido ferúlico, conjuntamente na polpa e na casca.

Não foi possível retirar conclusões estatisticamente relevantes da análise dos dados obtidos, com base na proveniência geográfica das diversas maçãs.

Tendo em consideração os valores apurados para as variedades cultivadas em modo biológico (*Porta da Loja*, *Querina* e *Maçã Verdeal*) e convencional (restantes variedades), os dados aqui apresentados, apesar de não poderem ser verdadeiramente comparados com aqueles reportados por Łata *et al.* (2009) e por Petkovšek *et al.* (2007) – uma vez que não se procedeu à avaliação de eventuais diferenças entre os dois tipos de produção para cada variedade –, não parecem mostrar um teor de fenólicos mais elevado por parte das variedades cultivadas em modo biológico. De facto, as variedades citadas não demonstraram possuir um teor de fenólicos que se destaque das restantes, produzidas em modo convencional. Todavia, e como referido, não poderão ser retiradas conclusões adequadamente assertivas a este respeito a partir dos dados obtidos.

No que diz respeito ao teor dos vários compostos identificados, eles divergem igualmente entre as variedades de maçãs analisadas, em grande parte com relevância estatística ao nível de $p < 0,05$, como provam os dados recolhidos do teste de Tukey e da homogeneidade das variâncias resultantes (Tabela 4.4).

Algumas variedades mostraram possuir valores consideravelmente mais elevados – com significância estatística ($p < 0,05$) – de determinados compostos, em relação a todas as restantes cultivares. No caso da polpa distinguiram-se os seguintes compostos nas seguintes variedades: *Maçã Branca* (ácido p-cumárico, flavanol 4, (–)-epicatequina-3-galato, flavonol 4, quercitrina e quercetina), *Pardo Lindo* (flavanol 3, derivado de floretina 1, floridzina e fenólicos totais), *Bravo de Esmolfe* (procianidina 1, (+)-catequina e (–)-epicatequina), *Reineta Parda* (ácido clorogénico), *Porta da Loja* (ácido hidroxicinâmico), *Fuji* (ácido procatecuico), *Casa Nova de Alcobaça* (isoquercitrina) e *Querina* (ácido cafeico).

As variedades *Pardo Lindo* e *Maçã Branca* apresentaram concentrações elevadas de flavanol 2, de procianidina B2, e de flavanol 5, atingindo valores significativamente superiores a todas as outras variedades.

Por outro lado, e ainda na polpa, algumas variedades destacaram-se por possuírem teores significativamente inferiores ($p < 0,05$) de alguns compostos em relação às demais cultivares, nomeadamente: *Starking* (ácido clorogénico e derivado de floretina 1), *Maçã Cunha* (catequina 4 e (–)-epicatequina), *Verdeal* e *Fuji* (ácido cafeico), *Maçã Cunha* e *Maçã Verdeal* (procianidina B2 e flavanol 5), e *Royal Gala* e *Maçã Cunha* (fenólicos totais).

Verificou-se algo semelhante na casca, com as seguintes variedades a mostrarem possuir teores significativamente superiores ($p < 0,05$) às restantes cultivares, no que concerne aos

compostos indicados: *Pardo Lindo* (procianidina 1, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, derivado de floretina 1 e floridzina), *Reineta Parda* (ácido hidroxicinâmico 2, flavanóis 3, 4 e 5, e fenólicos totais), *Camoesa da Azoia* (flavanol 1, ácidos hidroxibenzóicos 1 e 2, flavonol 1 e isoquercitrina), *Casa Nova de Alcobaça* (quercitrina e flavanóis 2 e 3), *Jonagold* (antocianinas 1, 2 e 3), *Maçã Branca* (procianidina B2 e quercetina), *Maçã Espelho* (flavanol 6 e (+)-catequina) e *Bravo de Esmolfe* (flavanol 7 e (-)-epicatequina). As variedades *Golden Delicious* e *Espelho* (ácido protocatecuico), *Espelho* e *Pardo Lindo* (ácido cafeico), e *Maçã Branca* e *Casa Nova de Alcobaça* (flavanol 4) demonstraram possuir teores significativamente mais elevados dos compostos referidos. Por outro lado, e no extremo oposto, diversas variedades diferenciaram-se por possuírem teores significativamente inferiores ($p < 0,05$) de alguns compostos em relação às restantes cultivares, nomeadamente: *Maçã Cunha* (procianidina, B2, catequina 5, derivado de floretina 1 e fenólicos totais), *Pipo de Basto* (flavanóis 2, 3 e 4), *Jonagold* (ácido protocatecuico), *Pipo de Basto* (ácido clorogénico), *Maçã Cunha* e *Maçã Verdeal* (flavanóis 3 e 4 e (-)-epicatequina), *Maçã Cunha* e *Starking* (ácido hidroxicinâmico), *Pardo Lindo* e *Pipo de Basto* (quercitrina), e *Maçã Cunha* e *Bravo de Esmolfe* (floridzina).

Analisando os compostos mais importantes, em termos gerais, sobressai que o ácido clorogénico é o composto mais representativo na polpa e um dos mais importantes na casca, tendo sido quantificado entre $1,626 \pm 0,005$ mg/100 g PF (*Starking*) e $25,39 \pm 0,12$ mg/100 g PF (*Reineta*) na polpa e entre $1,26 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Pipo de Basto*) e $33,71 \pm 0,35$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na casca (Figuras 4.22 e 4.23). A (-)-epicatequina, o principal composto fenólico da casca, foi encontrado numa concentração compreendida entre $8,01 \pm 0,20$ mg/100 g PF (*Maçã Verdeal*) e $80,32 \pm 0,68$ mg/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) na casca e entre $0,92 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $21,16 \pm 0,05$ mg/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) na polpa. A procianidina B2, outro composto presente em elevada quantidade, mostrou uma amplitude de valores compreendida entre $2,40 \pm 0,03$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $18,13 \pm 0,04$ mg/100 g PF (*Maçã Branca*), na polpa e entre $3,70 \pm 0,03$ mg/100 g PF e $44,79 \pm 0,18$ mg/100 g PF, na casca, para as mesmas variedades, respetivamente. Estes valores estão de acordo com determinações análogas publicadas na literatura consultada (Anexo I).

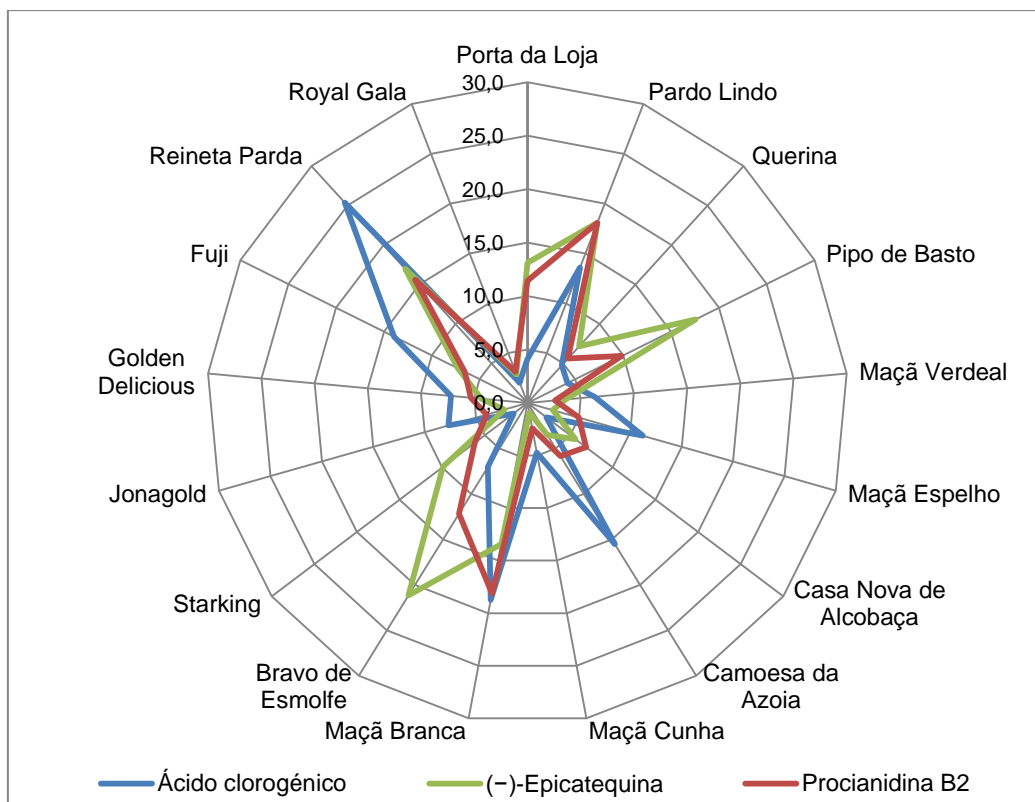


Figura 4.19. Teor de ácido clorogénico, (-)-epicatequina e procianidina B2 (mg/100 g PF) na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.

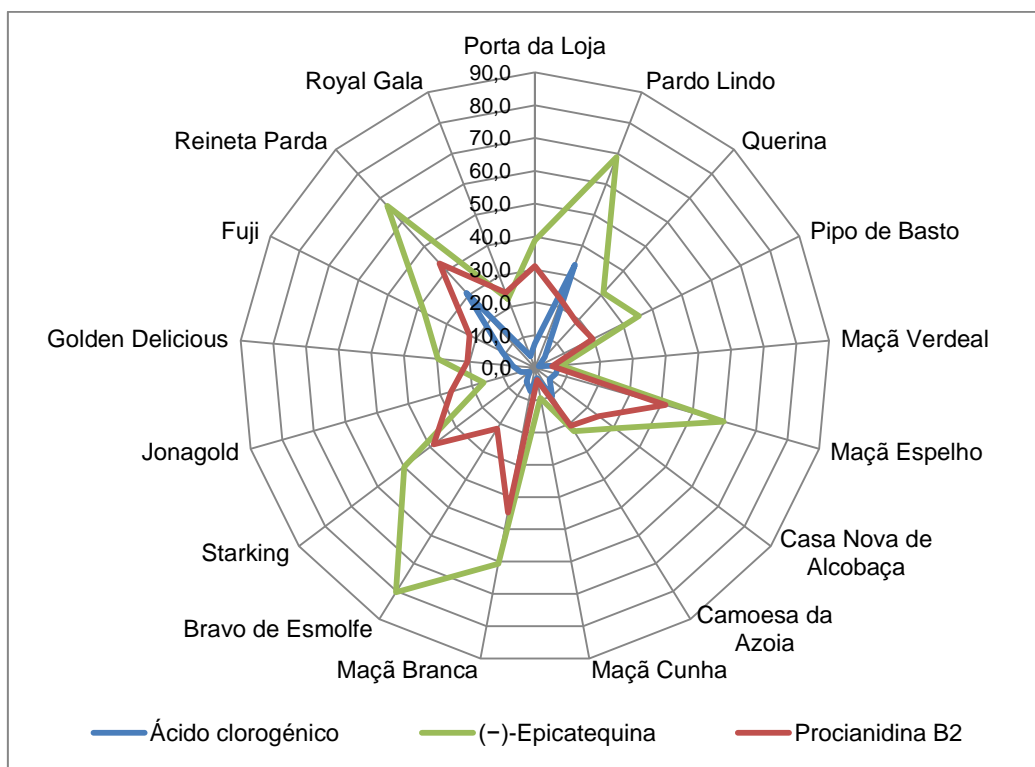


Figura 4.20. Teor de ácido clorogénico, (-)-epicatequina e procianidina B2 (mg/100 g PF) na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Todavia, algumas variedades evidenciaram outros compostos cujo teor é mais elevado do que a (–)-epicatequina, a procianidina B2 e/ou o ácido clorogénico. De facto, na polpa da variedade *Porta da Loja*, o composto ácido hidroxicinâmico 1 foi aquele que revelou um teor mais elevado, com $14,09 \pm 0,05$ mg/100 g PF, acima dos valores obtidos para a (–)-epicatequina e procianidina B2. Na maçã *Jonagold* este composto mostrou ser o terceiro composto mais importante da polpa do fruto ($2,40 \pm 0,02$ mg/100 g PF). Outros dois compostos, a procianidina 1 e o flavanol 4, evidenciaram ser os terceiros compostos mais importantes na polpa das variedades *Maçã Cunha* ($2,370 \pm 0,039$ mg/100 g PF) e *Starking* ($10,043 \pm 0,012$ mg/100 g PF), respetivamente.

Na casca, a floridzina ocorre em grande quantidade em algumas variedades, nomeadamente na *Maçã Verdeal*, onde é o composto mais abundante ($8,29 \pm 0,01$ mg/100 g PF), na *Pardo Lindo* – segundo composto mais importante ($61,81 \pm 1,22$ mg/100 g PF) –, e na *Reineta Parda* ($34,16 \pm 0,03$ mg/100 g PF), na *Starking* ($17,76 \pm 0,01$ mg/100 g PF) e na *Querina* ($9,98 \pm 0,07$ mg/100 g PF), onde a floridzina é o terceiro composto mais importante. O composto desconhecido flavanol 2 também mostrou ocorrer em grande quantidade nas variedades *Casa Nova de Alcobça* ($31,24 \pm 0,00$ mg/100 g PF) e *Camoesa da Azoia* ($25,49 \pm 0,13$ mg/100 g PF), onde o seu teor se sobrepôs a todos os restantes compostos. Na *Maçã Cunha*, a floridzina demonstrou ser o segundo composto mais abundante ($7,68 \pm 0,12$ mg/100 g PF) e o terceiro nas variedades *Fuji* ($14,87 \pm 0,04$ mg/100 g PF), *Golden Delicious* ($13,43 \pm 0,00$ mg/100 g PF) e *Jonagold* ($12,35 \pm 0,03$ mg/100 g PF). Foi também apurado que outros fenólicos podem ocorrer com expressividade, nomeadamente o composto desconhecido flavanol 3 – *Maçã Espelho* ($15,46 \pm 0,00$ mg/100 g PF), *Porta da Loja* ($13,62 \pm 0,23$ mg/100 g PF), *Bravo de Esmolfe* ($12,58 \pm 0,32$ mg/100 g PF) e *Royal Gala* ($6,19 \pm 0,13$ mg/100 g PF) –, a quercitrina – *Casa Nova de Alcobça* ($28,59 \pm 0,19$ mg/100 g PF) e *Maçã Branca* ($23,55 \pm 0,05$ mg/100 g PF) –, o flavanol 4 – *Maçã Cunha* ($4,23 \pm 0,11$ mg/100 g PF) – e o derivado de floretina 1 – *Pipo de Basto* ($13,72 \pm 0,01$ mg/100 g PF) –, que demonstraram ser, para as variedades referidas, os terceiros compostos mais representativos na casca.

Como foi anteriormente abordado, as maçãs possuem alguns compostos que lhes são específicos, como são o caso da floridzina e da floretina. Em relação a este último, foi apenas possível detetá-lo em quantidades vestigiais e numa pequena parte das variedades, quer na polpa, quer na casca. Já a floridzina foi encontrada em todas as variedades, com valores compreendidos entre $0,51 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Maçã Verdeal*) e $2,74 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na polpa e entre $2,87 \pm 0,04$ mg/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) e $61,81 \pm 1,22$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na casca, em linha com o reportado por trabalhos anteriores, nomeadamente de Khanizadeh *et al.* (2007a) e de Kondo *et al.* (2002). O teor de floridzina desta última variedade é de tal forma elevado que mostrou representar 20,7% do teor de fenólicos existente na casca do fruto, logo atrás da (–)-epicatequina (23,1%) e a larga distância do composto seguinte, a procianidina B2 (7,0%). Foi identificada uma outra dihidrochalcona –

um composto derivado da floretina – em quantidades muito apreciáveis, cujos valores mais elevados foram também registados pela variedade *Pardo Lindo* e atingiram $4,84 \pm 0,04$ mg/100 g PF e $17,83 \pm 0,06$ mg/100 g PF, na polpa e casca, respetivamente.

Da parte dos flavanóis – o principal grupo de flavonóides em maçãs – os compostos (–)-epicatequina e procianidina B2, já citados, são aqueles que estão presentes em maior quantidade em ambas as frações analisadas do fruto (polpa e casca). A (+)-catequina foi também identificada, tendo sido quantificada com valores até $2,61 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) na polpa e $7,98 \pm 0,14$ mg/100 g PF (*Maçã Espelho*) na casca, em acordo com outros estudos (Mari *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2008; Alonso-Salces *et al.*, 2004; Tsao *et al.*, 2003). Para além destes, foram também encontrados outros 7 flavanóis desconhecidos (catequinas e procianidinas), dos quais se destaca o composto flavanol 3, para o qual foi apurado um valor até $6,78 \pm 0,03$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na polpa e entre $1,85 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Maçã Cunha*) e $19,92 \pm 0,21$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*) na casca. Importa ressaltar que os compostos (–)-galocatequina, (–)-epigalocatequina-3-galato e (–)-galocatequina-3-galato não foram detetados nem na polpa nem na casca, e que aos compostos (–)-catequina-3-galato e (–)-epicatequina-3-galato, apesar de terem sido detetados na polpa e na casca, num número muito restrito de amostras, os valores obtidos situaram-se abaixo do limite de deteção. A deteção destes compostos apesar de pouco descrita na literatura, está em linha com estudos anteriores que reportam a ocorrência de galocatequinas e de epigalocatequinas em maçãs (Yao *et al.*, 2004; Shui & Leong 2002; Treutter, 2001).

Foram também detetados diversos compostos pertencentes ao grupo dos flavonóis, muito embora em pequenas quantidades, sobretudo quando equacionado o valor médio obtido pelas 17 variedades. A quercitrina foi o principal flavanol identificado na polpa, apesar de ter demonstrado que contribui, em média, com apenas 0,9% para o teor de fenólicos. O valor mais elevado foi obtido pela *Maçã Branca* ($2,09 \pm 0,001$ mg/100 g PF). Na casca os valores situaram-se entre $0,90 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) e $28,59 \pm 0,19$ mg/100 g PF (*Casa Nova de Alcobaça*). A isoquercitrina, outro composto mencionado por diversos autores, foi encontrada em teores até $0,72 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Bravo de Esmolfe*) na polpa e até $10,77 \pm 0,15$ mg/100 g PF (*Camoesa da Azoia*) na casca. A quercetina revelou concentrações inferiores e o teor mais elevado foi obtido na *Maçã Branca*, quer na polpa ($0,14 \pm 0,01$ mg/100 g PF), quer na casca ($0,96 \pm 0,00$ mg/100 g PF). Para além destes, foram ainda encontrados quatro flavonóis desconhecidos, dos quais se destaca o composto flavanol 2, que revelou um teor máximo de $31,24 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Casa Nova de Alcobaça*) na casca, todavia não foi detetado na polpa. Estes dados estão alinhados com o descrito, nomeadamente por Petkovšek *et al.* (2010), Khanizadeh *et al.* (2008), Alonso-Salces *et al.* (2005) e Chinnici *et al.* (2004a).

Por parte dos ácidos hidroxicinâmicos, e como já foi abordado, o ácido clorogénico foi o composto apurado em maior quantidade, seguido do ácido p-cumárico – com valores até $3,06 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Maçã Branca*) na polpa e $4,77 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Pardo Lindo*) na casca –

e do ácido cafeico, cujos valores mais elevados foram apurados nas variedades *Querina* ($2,17 \pm 0,00$ mg/100 g PF) e *Espelho* ($2,17 \pm 0,00$ mg/100 g PF), respetivamente para polpa e casca, em consonância com trabalhos anteriores (Petkovšek *et al.*, 2010; Veberic *et al.*, 2005; Alonso-Salces *et al.*, 2004; Escarpa & González; 1998). Apesar de ter sido detetado em todas as variedades, o ácido ferúlico não pôde ser quantificado em nenhuma delas, dado que os valores obtidos se encontravam abaixo do limite de deteção. Foram ainda observados mais quatro compostos desconhecidos, dos quais se destacam o ácido hidroxicinânico 1 na polpa, com valores até $14,09 \pm 0,05$ mg/100 g PF, e o ácido hidroxicinâmico 2 na casca, com valores até $2,00 \pm 0,00$ mg/100 g PF (*Reineta Parda*).

No que concerne aos ácidos hidroxibenzóicos, o ácido protocatecuico foi aquele que demonstrou ser mais representativo, com valores até $0,54 \pm 0,01$ (*Fuji*) na polpa, e entre $2,62 \pm 0,01$ mg/100 g PF (*Jonagold*) e $5,23 \pm 0,12$ mg/100 g PF (*Golden Delicious*) na casca, em linha com o reportado por Petkovšek *et al.* (2007) e por Veberic *et al.* (2005). O ácido gálico foi apenas identificado em algumas variedades, mas a níveis não quantificáveis. Para além destes, detetaram-se dois outros compostos, muito embora somente na casca, nomeadamente o ácido hidroxibenzóico 1, cujo teor máximo atingiu $1,62 \pm 0,03$ mg/100 g PF (*Camoesa da Azoia*) e o ácido hidroxibenzóico 2, com um valor máximo de $2,84 \pm 0,02$ mg/100 g PF (registado pela mesma variedade).

Por último importa referir que as antocianinas, que são compostos exclusivamente encontrados na casca e que contribuem para a coloração vermelha (Hagen *et al.*, 2007), foram de facto observadas num nível mais elevado em variedades que apresentam coloração vermelha, ainda que em pequena extensão, nomeadamente *Jonagold*, *Starking*, *Royal Gala*, *Maçã Cunha*, *Camoesa da Azoia*, *Casa Nova de Alcobça*, *Maçã Branca*, *Maçã Espelho*, *Querina*, *Fuji*, *Porta da Loja* e *Pipo de Basto*. As variedades com coloração amarela ou verde revelaram conter um teor muito reduzido destes compostos. Os valores apurados ficaram compreendidos entre um valor situado abaixo do limite de deteção, em variedades como a *Reineta Parda*, *Pardo Lindo* e *Golden Delicious*, e $6,58 \pm 0,10$ mg/100 g PF (*Jonagold*), em acordo a literatura (Mari *et al.*, 2010; Petkovšek *et al.*, 2010; Khanizadeh *et al.*, 2007a; Tsao *et al.*, 2003). Das três antocianinas detetadas, apenas a variedade *Jonagold* atingiu valores quantificáveis em todas elas. Como era expectável, não foram detetadas antocianinas na polpa de nenhuma variedade.

De uma forma geral os dados aqui apresentados corroboram aqueles reportados em trabalhos anteriores (Anexo I).

Se analisarmos a contribuição de cada componente fenólico individual para a totalidade do teor de fenólicos totais das 17 variedades estudadas, verificamos que na polpa os compostos predominantes são, por esta ordem, o ácido clorogénico, a (–)-epicatequina e a procianidina B2, constituindo cerca de 54,7% do total de compostos fenólicos (Figura 4.24). Na casca, são

também estes os três compostos mais importantes, totalizando cerca de 43,3% dos fenólicos totais, mas numa ordem diferente de abundância relativa: (-)-epicatequina, procianidina B2 e ácido clorogénico (Figura 4.25).

Se na polpa os três compostos enunciados são responsáveis por fatias de dimensões muito semelhantes (18,7%, 18,7% e 17,3%, respetivamente), na casca apresentam diferenças mais relevantes (22,1%, 14,2% e 6,9%, respetivamente), que acabam por ser esbatidas quando considerado o fruto inteiro (polpa e casca) (Figura 4.26). Analisando estes dados, verifica-se que o ácido clorogénico é mais representativo na polpa do que na casca, apesar de em algumas variedades, como são o caso da *Casa Nova de Alcobça*, da *Pardo Lindo* e da *Royal Gala*, entre outras, verificar-se precisamente o inverso. Esta situação fica a dever-se sobretudo às variedades *Pipo de Basto*, *Maçã Branca*, *Jonagold* e *Maçã Espelho* que mostraram possuir um teor mais elevado deste composto na polpa do que na casca (Tabela 4.4).

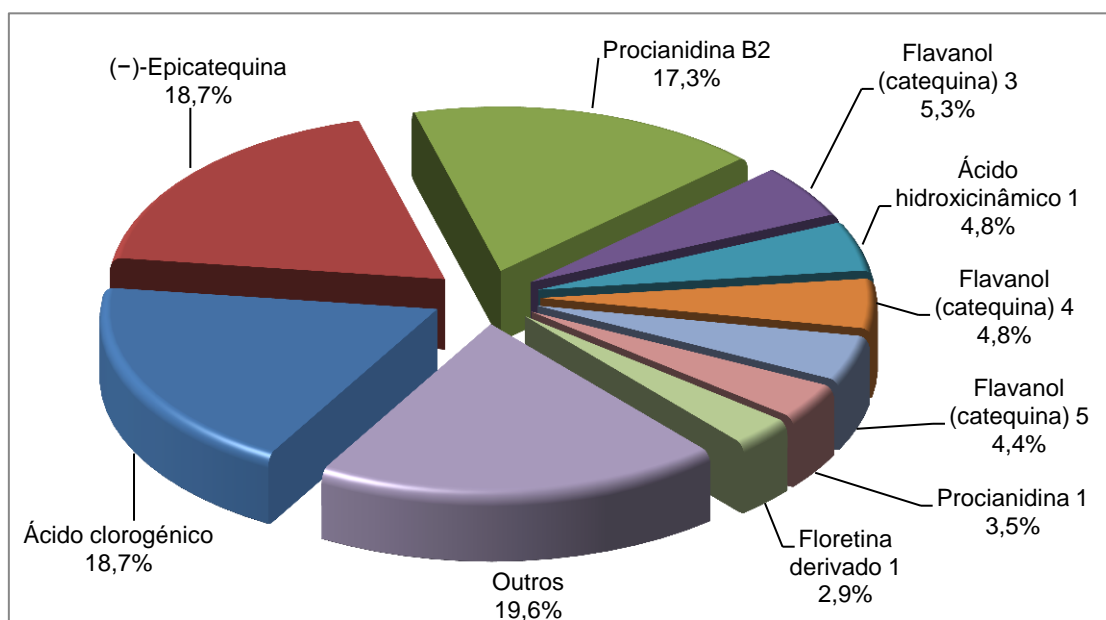


Figura 4.21. Contribuição média dos principais compostos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.

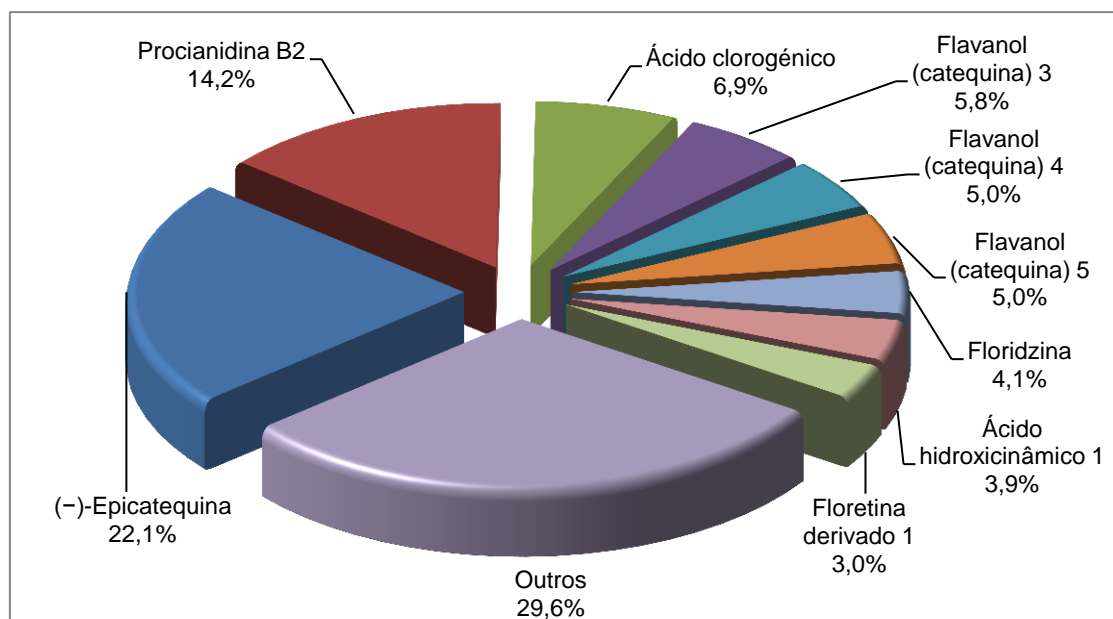


Figura 4.22. Contribuição média dos principais compostos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

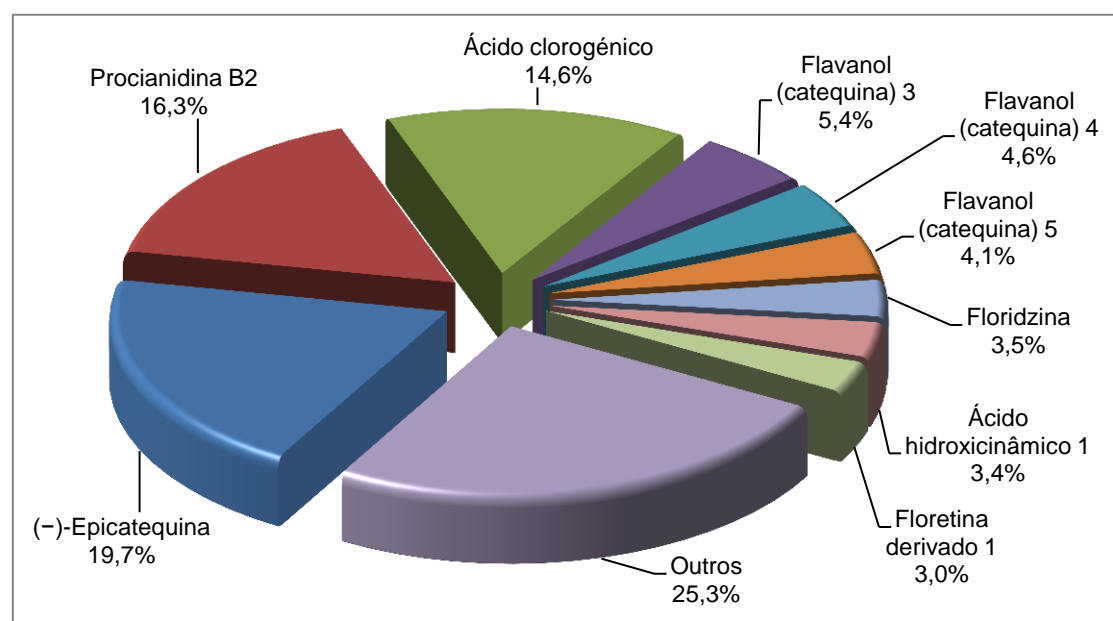


Figura 4.23. Contribuição média, estimada, dos principais compostos para o teor de fenólicos totais de 17 variedades de maçãs (polpa + casca) de Portugal.

Analisando as classes de compostos, e ainda em termos médios, apurou-se que a polpa é fundamentalmente constituída por flavanóis (catequinas e procianidinas) (59,5%), seguido de ácidos hidroxicinâmicos (31,7%), dihidrochalconas (6,1%), flavonóis (1,5%) e, por último, de ácidos hidroxibenzóicos (1,2%) (Figura 4.27).

Os flavanóis são também o grupo mais destacado na casca (59,1%). Todavia, a abundância relativa das restantes famílias de compostos é diferente da observada na polpa. O segundo grupo mais importante é o grupo dos flavonóis (18,7%), seguido das dihidrochalconas (10,6%), ácidos hidroxicinâmicos (6,6%), ácidos hidroxibenzóicos (3,6%) e antocianinas, que contribuem apenas com 1,4% para o teor de fenólicos totais na casca das maçãs (Figura 4.28). Estes resultados permitem a extrapolação de que o fruto inteiro beneficia, por um lado do elevado teor de ácidos hidroxicinâmicos veiculado pela polpa e, por outro, do acréscimo de ácidos hidroxibenzóicos, dihidrochalconas e, sobretudo, de flavonóis da casca (Figura 4.29). Dado que a polpa não possui antocianinas, o consumo do fruto com casca pode contribuir com uma pequena fatia destes compostos. Estes dados são comparáveis com trabalhos anteriores, nomeadamente com os estudos conduzidos por Łata *et al.* (2009) e por Alonso-Salces *et al.* (2004), quer para a polpa quer para a casca.

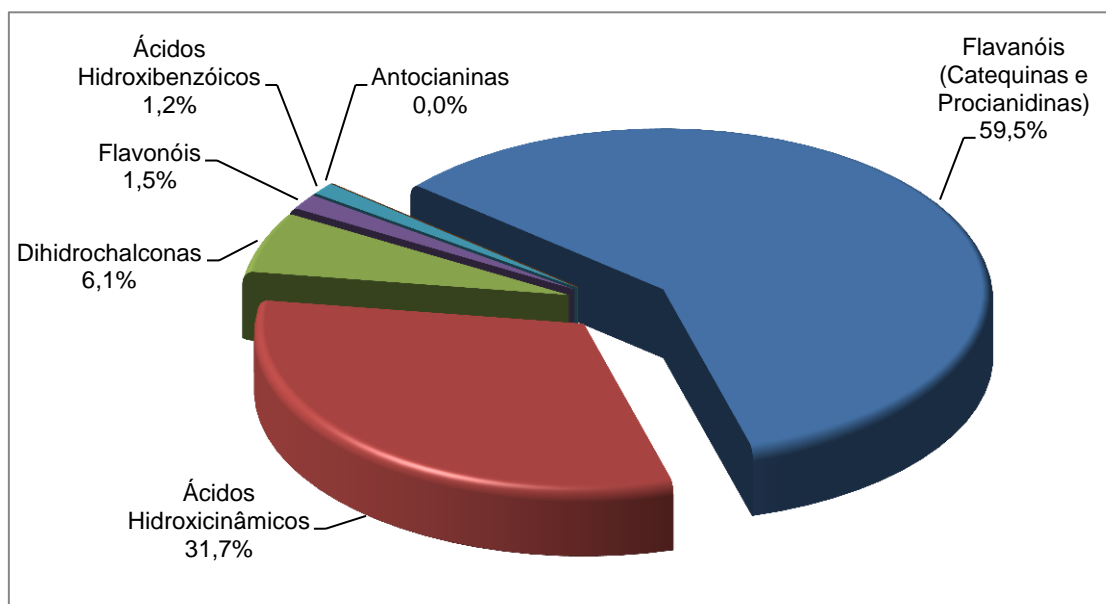


Figura 4.24. Contribuição média das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.

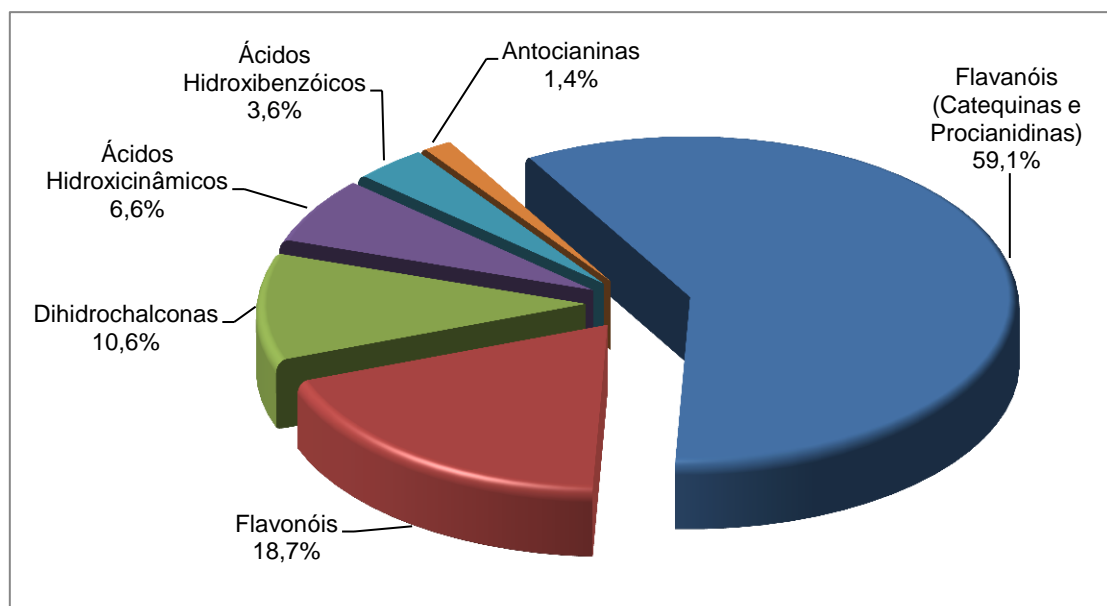


Figura 4.25. Contribuição média das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

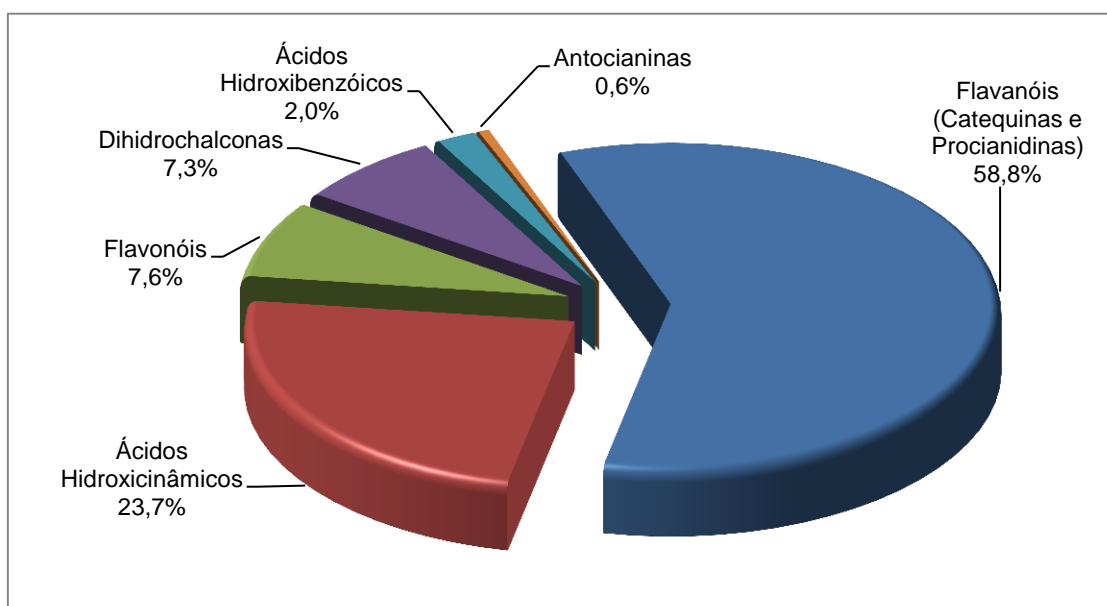


Figura 4.26. Contribuição média, estimada, das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais no fruto inteiro (polpa + casca) de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Em termos individuais, ou seja, avaliando cada uma das variedades estudadas, a relação percentual entre as diversas classes de compostos revelou-se tão diferenciada, como diferentes mostraram ser os teores apurados de cada um dos compostos (Figuras 4.30 e 4.31). Da leitura destas figuras pode extrair-se que os flavanóis são o principal grupo de compostos na polpa de todas as variedades, com exceção das maçãs *Espelho*, *Cunha* e *Jonagold*, onde os ácidos hidroxinâmicos se sobrepõem, sobretudo devido à elevada concentração de ácido

clorogénico e a teores mais baixos de (–)-epicatequina e procianidia B2. Na casca, os flavanóis também mostraram ser o principal grupo de compostos em todas as variedades estudadas, excetuando na variedade *Casa Nova de Alcobça*, onde a elevada concentração do composto desconhecido flavonol 2, bem como de quercitrina e de isoquercitrina, explicam o resultado apontado.

Analisando com mais detalhe, sobressai que na polpa da *Starking* os flavanóis mostraram contribuir com 75,8% para o teor de fenólicos totais desta fração, enquanto que no extremo oposto, na *Maçã Espelho* corresponderam a uma fatia muito mais modesta (30,9%). Curiosamente, estas duas variedades mostram uma inversão completa de posição, quando analisado o segundo grupo de compostos que mais contribui para o teor de fenólicos totais na polpa: os ácidos hidroxicinâmicos. Neste caso, a *Maçã Espelho* apresentou o valor mais elevado, com 51,2% e a *Starking* o mais baixo, com 7,4%.

As dihidrochalconas concorrem para o teor de fenólicos totais de uma forma mais modesta, contribuindo com um valor que ficou compreendido entre 2,3% (*Bravo de Esmolfe*) e 9,9% (*Royal Gala*). Quanto aos flavonóis e aos ácidos hidroxibenzóicos a sua participação conta apenas com valores que vão até 4,6% e 3,3%, respetivamente.

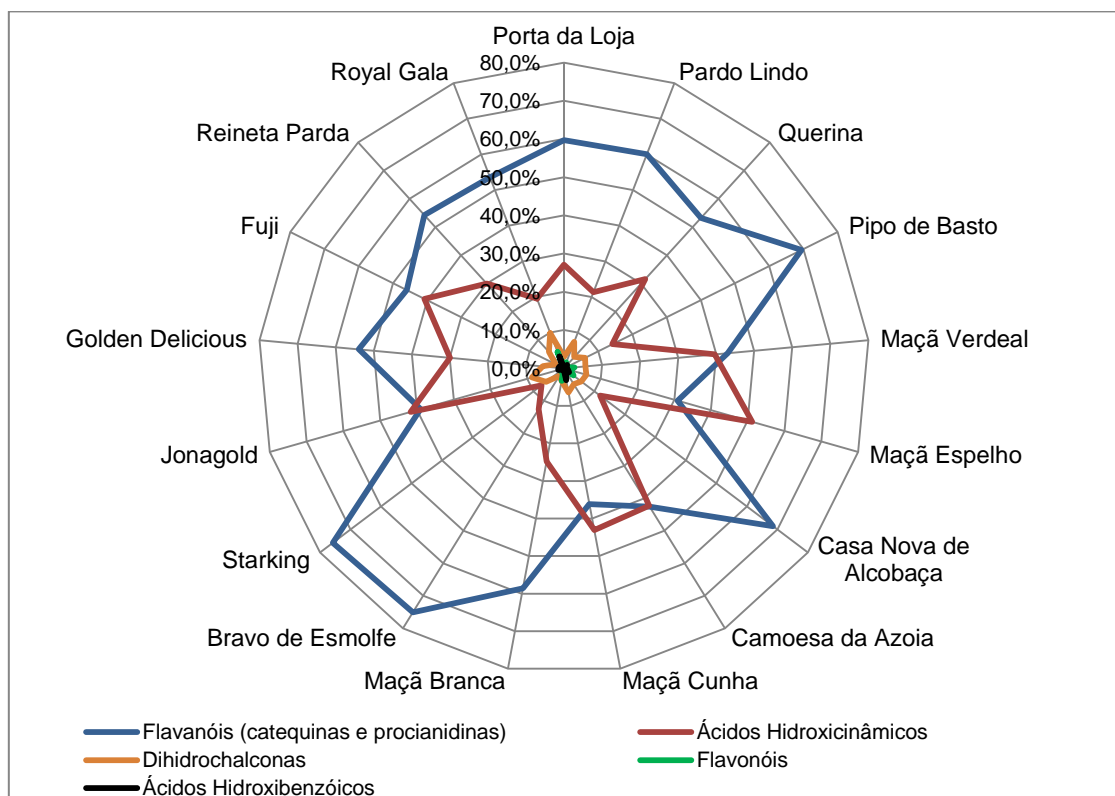


Figura 4.27. Contribuição percentual das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.

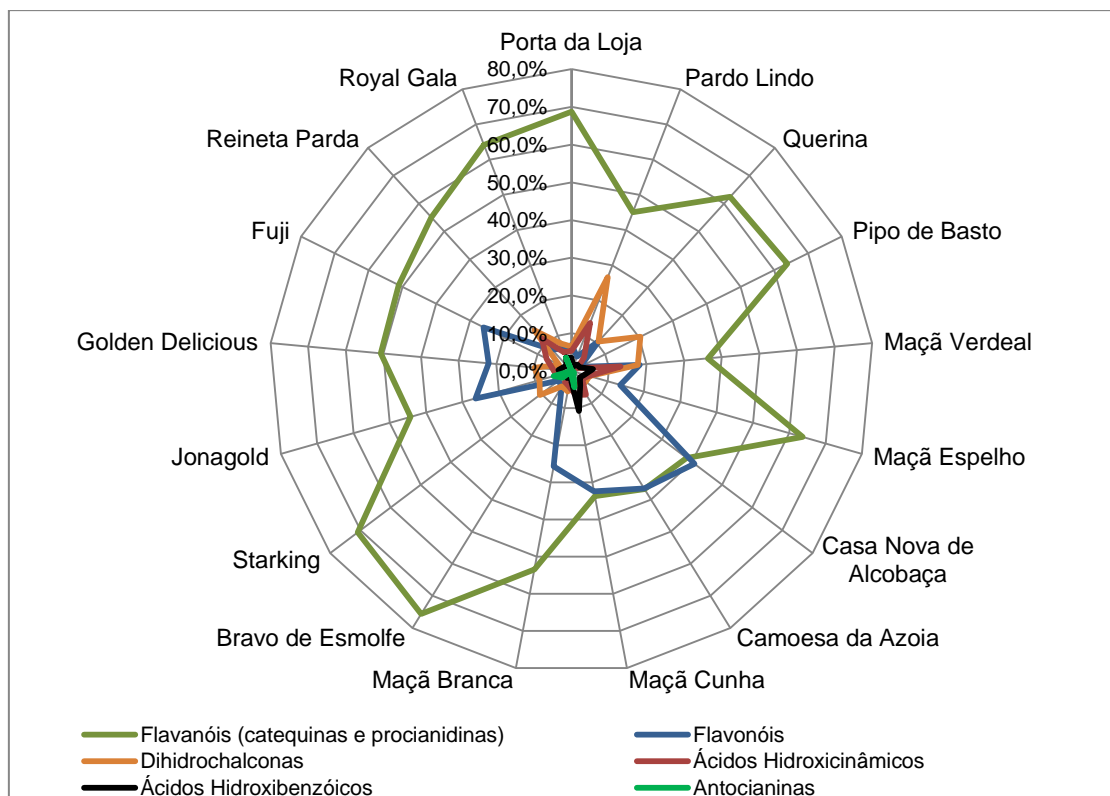


Figura 4.28. Contribuição percentual das classes de fenólicos para o teor de fenólicos totais na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Na casca, a *Maçã Branca* foi aquela cujo teor de fenólicos revelou uma maior contribuição de flavanóis (75,7%). Por outro lado, a casca da *Maçã Cunha* apresentou uma quantidade muito menor destes compostos (33,7%). Isto deve-se essencialmente ao seu elevado teor de flavonóis (32,4%) que, no entanto, não suplantou os valores obtidos pela *Camoesa da Azoia* (36,6%) e pela *Casa Nova de Alcobaça* (40,8%).

Em termos das dihidrochalconas, a sua contribuição para o teor de fenólicos totais mostrou ser muito elevada na variedade *Pardo Lindo* (26,7%) e muito baixa na *Maçã Cunha* (3,4%).

Os ácidos hidroxicinâmicos contribuem ainda com valores compreendidos entre 1,3% (*Starking*) e 13,6% (*Pardo Lindo*), e os ácidos hidroxibenzóicos entre 1,3% (*Pardo Lindo*) e 10,7% (*Maçã Cunha*). As antocianinas, presentes sobretudo nas variedades de coloração vermelha, contribuem até 4,9% (*Jonagold*) para o teor de compostos fenólicos da casca.

4.4. CONCLUSÕES

As maçãs constituem uma das principais fontes de flavonóides da dieta portuguesa e os dados apresentados revelam que são sobretudo ricas em três compostos predominantes, que contribuem em média com mais de 50% para o teor de fenólicos totais do fruto com casca: (–)-epicatequina (19,7%), de procianidina B2 (16,3%) e de ácido clorogénico (14,6%). Para grande parte das variedades estudadas, os flavanóis constituem a principal classe de compostos identificada quer na polpa, quer na casca, e representam em média mais de 50% do teor de fenólicos. Por outro lado, os ácidos hidroxibenzóicos na polpa e as antocianinas na casca são os grupos com menor abundância relativa.

Entre polpa e casca foram detetados 38 compostos, dos quais 16 puderam ser efetivamente identificados com recurso a padrões. Este estudo dá um contributo muito importante para o conhecimento de algumas variedades tradicionais (*Maçã Branca*, *Camoesa da Azoia*, *Maçã Cunha*, *Maçã Espelho* e *Querina*), para as quais não se conhecem trabalhos relativos ao seu conteúdo em compostos fenólicos, nem à sua atividade antioxidante, e em particular no caso da *Maçã Branca*, *Camoesa da Azoia*, e *Maçã Espelho* não se conhecem trabalhos de qualquer natureza.

Este facto é particularmente relevante para as variedades *Maçã Branca* e *Camoesa da Azoia*, que apresentaram quantidades de compostos fenólicos e atividades antioxidantes bastante superiores às obtidas para outras variedades.

No caso de outras variedades, já estudadas por outros autores (*Porta da Loja*, *Casa Nova de Alcobça*, *Pardo Lindo*, *Maçã Verdeal*, *Pipo de Basto* e *Bravo de Esmolfe*), os resultados apresentados contribuem para a confirmação das suas características físico-químicas e funcionais e ampliam a caracterização do perfil de compostos fenólicos, fornecendo informação adicional sobre estes componentes bioativos.

Os resultados aqui exibidos corroboram dados reportados anteriormente, nomeadamente o elevado teor de fenólicos que tem sido reportado para a variedade *Reineta Parda* (Khanizadeh *et al.*, 2007a; Khanizadeh *et al.*, 2007b), e mostram que existem duas variedades tradicionais portuguesas que são comparáveis com esta: *Pardo Lindo* e *Maçã Branca*, esta última circunscrita ao Concelho de Sesimbra e que infelizmente está em risco de extinção.

Outra conclusão importante é o facto das variedades tradicionais revelarem em média um teor de fenólicos superior à média das variedades exóticas. Tendo em consideração as variedades mais consumidas em Portugal (*Golden Delicious*, *Royal Gala* e *Jonagold*), o estudo aqui apresentado mostra que as variedades *Pardo Lindo* e *Maçã Branca* evidenciaram um teor de fenólicos até 5 vezes maior. Comparando com as cultivares *Starking* e *Fuji*, variedades também

muito consumidas no país, a diferença desce sensivelmente para metade, o que ainda assim, é um valor muito considerável. Estes dados demonstram que algumas variedades tradicionais (designadamente *Pardo Lindo*, *Maçã Branca*, *Bravo de Esmolfe*, *Porta da Loja*, *Pipo de Basto*, *Camoesa da Azoia* e *Casa Nova de Alcobça*), cujo consumo é inexpressivo ou ainda de pequena monta, possuem uma composição fenólica que suplanta as variedades mais consumidas no nosso país.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ahn, T., Paliyath, G., & Murr, D. (2007). Antioxidant enzyme activities in apple varieties and resistance to superficial scald development, *Food Research International*, 40:1012–1019, doi:10.1016/j.foodres.2007.05.007.
2. Almeida, D. P. F., & Pintado, M. (2007). Caracterização nutritiva e funcional de variedades de maçã de Alcobaça. Relatório preparado para a Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça. Centro de Biotecnologia e Química Fina, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto.
3. Alonso-Salces, R.M., Barranco A., Abad, B., Berrueta, L.A., Gallo, B., & Vicente F. (2004). Polyphenolic profiles of basque cider apple cultivars and their technological properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:2938-2952, doi: 10.1021/jf035416l.
4. Alonso-Salces, R.M., Herrero, C., Barranco A., Berrueta, L.A., Gallo, B., & Vicente F. (2005). Classification of apple fruits according to their maturity state by the pattern recognition analysis of their polyphenolic compositions. *Food Chemistry*, 93:113-123, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.013.
5. Bravo, M. N., Silva, S., Coelho, A. V., Vilas Boas, L., Bronze, M. R. (2006). Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal. *Analytica Chimica Acta*, 563:84-92, doi:10.1016/j.aca.2005.11.054.
6. Burda, S., Oleszek, W., & Lee, Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38:945-948, doi: 10.1021/jf00094a006.
7. Callegari-Jacques, S. (2003). Bioestatística: princípios e aplicações. Artemed, Porto Alegre, Brasil, ISBN: 8536300929, 255 pp.
8. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
9. Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Savatović, S., Mandić, A., & Tumbas, V. (2008). Assessment of polyphenolic content and *in vitro* antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347, doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.046.
10. Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(suppl):223S-229S.
11. Chinnici, F., Gaiani, A., Natali, N., Riponi, C., & Galassim, S. (2004a). Improved HPLC determination of phenolic compounds in cv. golden delicious apples using a monolithic column. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:3-7.

12. Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004b). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:4684-4689.
13. Cook, N., & Samman, S. (1996). Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 7:66-76.
14. D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A., (2007). "Limoncella" Apple, an Italian Apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104:1333-1337, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.073.
15. Dixon, R.A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7):1085-1097.
16. Drogoudi, P., Michailidis, Z., & Pantelidis, G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115:149-153, doi: 10.1016/j.scienta.2007.08.010.
17. Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., & Liu, R.H. (2000). Nutrition: antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405:903–904.
18. Escarpa, A., & González, M.C. (1998). High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *Journal of Chromatography A*, 823:331–337.
19. Escarpa, A., & González, M.C. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427: 119–127, doi: 10.1016/S0003-2670(00)01188-0.
20. Golding, J. B., McGlasson, W. B., Wyllie, S. G., & Leach, D. N. (2001). Fate of apple peel phenolics during cool storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49:2283-2289, doi: 10.1021/jf0015266.
21. González-Gallego, J., Sánchez-Campos, S., & Tuñón, M. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición Hospitalaria*, 22:287-293.
22. Hagen, S.F., Borge, G.I., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., & Solhaug, K. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 45:1–10, doi:10.1016/j.postharvbio.2007.02.002.
23. Halliwell, B., Rafter, J., & Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: Direct or indirect effects? Antioxidant or not? *American Journal of Clinical Nutrition*, 81:268S–276S.
24. Harborne, J.B., & Williams, C.A. (2000). Review: Advances in Flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55:481-504.

25. He, Xiangjiu, & Liu, R. H. (2008). Phytochemicals of apple peels: isolation, structure, elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:9905-9910, doi: 10.1021/jf8015255.
26. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572–584.
27. Huber, G.M., & Rupasinghe, H.P.V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of Food Science*, 74(9):C693-C700, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01356.x.
28. Iglesias, I. & Alegre, S. (2006). The effect of anti-hail nets on fruit protection, radiation, temperature, quality and profitability of 'Mondial Gala' apples. *Journal of Applied Horticulture*, 8(2):91-100.
29. Kahle, K., Kraus, M., & Richling, E. (2005a). Polyphenol profiles of apple juices. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49:797-806, doi: 0.1002/mnfr.200500064.
30. Khanizadeh, S., Ding, L. Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. Vigneault, C., & Rupasinghe, H.P.V. (2007a). Phytochemical distribution among selected advanced apple genotypes developed for fresh market and processing. *Journal of Agricultural, Food & Environmental Sciences*, 1(2), online-ISSN: 1934-7235.
31. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., & DeEll, J. (2007b). Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(1):61-66, ISSN: 1459-0255.
32. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.
33. Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., & Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apple skin or fles extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96:177-185.
34. Kris-Etherton, P., Hecker, K., Bonanome, A., Coval, S., Binkoski, A., Hilpert, K., Griel, A., & Etherton, T. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9B):71S-88S.
35. Łata, B., Przeradzka, M., & Bińkowska, M. (2005a). Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:8970-8978, doi: 10.1021/jf051503x.
36. Łata, B. (2007a). Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:663-671, doi: 10.1021/jf062664j.

37. Łata, B., Trampczynska, B., & Paczesna, J. (2009). Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121:176–181, doi: 10.1016/j.scienta.2009.01.038.
38. Leccese, A., Bartolini, S. & Viti, R. (2009). Antioxidant properties of peel and flesh in 'GoldRush' and 'Fiorina' scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 37(1):71-78, doi: 10.1080/0114067090951025.
39. Lee, K., Kim, Y., Kim, D., Lee, H., & Lee, C. (2003). Major phenolics in Apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:6516-6520.
40. Lotito, S.B., & Frei, B. (2004). Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 36(2): 201-202, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.10.005.
41. MacLean, D., Murr, D., DeEll, J., & Horvath, C. (2006). Postharvest variation in apple (*Malus domestica* Borkh.) flavonoids following harvest, storage, and 1-MCP treatment. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54:870-878.
42. Mari, A., Tedesco, I., Nappo, A., Russo, G., Malorni, A., & Carbone V. (2010). Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” Apple, a southern Italian cultivar. *Food Chemistry*, 123:157-164, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.023.
43. Marks, S.C., Mullen, W., & Crozier, A. (2007). Flavonoid and hydroxycinnamate profiles of English apple ciders. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(21): 8723-8730, doi: 10.1021/jf071155u.
44. McGhie, T. K., Hunt, M., & Barnett, L. E. (2005). Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:3065-3070.
45. Mullen, W., Marks, S.C., & Crozier, A. (2007). Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(8): 3148-3157, doi: 10.1021/jf062970x.
46. Pearson, D., Tan, C., German, J., Davis, P., & Gershwin, M. (1999). Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. *Life Sciences*, 64(21):1913-1920.
47. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114:37-44, doi: 10.1016/j.scienta.2007.05.004.
48. Petkovšek, M.M., Slatnar, A., Štampar, F., & Veberič. (2010). The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:2366-2378, doi: 10.1002/jsfa.4093.

49. Podsędek, A., Wilska-Jeszka, J., Anders B., & Markowski, J. (2000). Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*, 2010:268-272.
50. Ross, J.A., & Kasum, C.M. (2002). Dietary Flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22:19–34, doi: 10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957.
51. Sarkar, M., Khandavilli, S., & Panchagnula, R. (2006). Development and validation of RP-HPLC and ultravioleta spectrophotometric methods of analysis for the quantitative estimation of antiretroviral drugs in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Chromatography B*, 830: 349–354, doi:10.1016/j.jchromb.2005.11.014.
52. Schieber, A., Keller, P., & Carle, R. (2001). Determination of phenolic acids and flavonóides of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 910:265-273.
53. Shabir, G.A. (2003). Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A*. 987, 14:57-66. 10.1016/S0021-9673(02)01536-4.
54. Shui, G., & Leong, L. P. (2002). Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 977:89–96.
55. Spanos, A., & Wrolstad, E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:1478-1487.
56. Sun, J., Chu, Y., Wu, X., & Liu, R. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of commom fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:7449-7454.
57. Toothaker, L. (1993). *Multiple Comparison Procedures*, University of Oklahoma Health Sciences Center, Sage Publications, Inc. ISBN: 9780803941779, 96 pp.
58. Torres, B., Tiwari, B.K., Patras, A., Wijngaard, H.H., Brunton, N., Cullen, P.J., & O'Donnel, C.P. (2011). Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. *Food Chemistry*, 124:721-726, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.050.
59. Treutter, D. (2001). Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation*, 34:71-89.
60. Tsao, R., Yang, R., Young, J.C., & Zhu, H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:6347-6353, doi: 10.1021/jf0346298.

61. Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., & Khanizadeh, S. (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:4989-4995, doi: 10.1021/jf048289h.
62. Van der Sluis, A., Dekker, M., Jager, A., & Jogen, W. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49:3606-3613, doi: 10.1021/jf001493u.
63. Van der Sluis, A., Dekker, M., Skrede, G., & Jongen, W. (2002). Activity and concentration of polyphenolic antioxidant in apple juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:7211-7219, 10.1021/jf020115h.
64. Vanzani, P., Rossetto, M., Rigo, A., Vrhovsek, U., Mattivi, F., D'Amato, E., & Scarpa, M. (2005). Major phytochemicals in apple cultivars: Contribution to peroxyl radical trapping efficiency. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:3377-3382.
65. Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1687-1694, doi: 10.1002/jsfa.2113.
66. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Pietro, P., Nunes, E., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Scientia Horticulturae*, 128:261-266, doi: 10.1016/j.scienta.2011.01.032.
67. Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. & Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:6532-6538.
68. Woffram, S., Blöck, M., and Ader, P. (2002). Quercetin-3-glucoside is transported by the glucose carrier SGLT1 across the brush border membrane of rat small intestine. *Journal of Nutrition*, 132:630-635.
69. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:6520-6530.
70. Wolfe, K. L., Wu, X., & Liu, R. H. (2003a). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:609-614, doi: 10.1021/jf020782a.
71. Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomás-Barberá, F.A., Data, N., Singanusong, R. & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59:113-122.
72. Zhang, Y., Li, Pengmin, & Cheng, L. (2010). Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in 'Honeycrisp' apple flesh. *Food Chemistry*, 123:1013-1018, doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.053.



CAPÍTULO 5

Discussão Geral e Correlações

- Cinzas e minerais
- Fósforo
- Azoto
- Fibras
- Açúcares
- Acidez titulável
- Rácio açúcares/acidez
- Classes de fenólicos encontrados
- Carotenóides totais
- Perfil de fenólicos e atividade antioxidante
- Variedades exóticas vs variedades tradicionais

5.1. INTRODUÇÃO

Apesar da grande diversidade de resultados disponíveis na literatura, não foram encontrados estudos que apresentem dados relativos a correlações envolvendo compostos minerais, fósforo, azoto, açúcares redutores, açúcares não redutores e rácio açúcares/acidez.

Relativamente ao teor em fibra, o trabalho de Leontowicz e colaboradores (Leontowicz *et al.*, 2003) reporta a existência de uma baixa correlação entre o conteúdo em fibra e a atividade redutora (FRAP). O estudo conduzido por Hagen e colaboradores (Hagen *et al.*, 2007) aponta para a existência de uma baixa correlação entre a acidez titulável e a atividade antioxidante, em acordo com estudos posteriores (Vieira *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008), que dão ainda conta de uma baixa correlação entre o teor em açúcares totais e a atividade antioxidante.

Contudo, são diversos os estudos que efetuam correlações entre o teor de fenólicos totais e alguns compostos fenólicos, relativamente à atividade antioxidante. Alguns destes trabalhos têm correlacionado positivamente o teor de fenólicos totais (determinado pelo método Folin-Ciocalteu) com a atividade antirradicalar (DPPH), nomeadamente Manzoor *et al.* (2012) ($r = 0,97$, polpa; $r = 0,98$, casca), Drogoudi *et al.* (2008) ($r = 0,91$, polpa; $r = 0,98$, casca), García *et al.*, (2009) ($r = 0,85$, fruto inteiro), Carbone *et al.* (2011) ($r = 0,55$, fruto inteiro), Vieira *et al.* (2011) ($r = 0,94$, polpa; $r = 0,72$, casca), D'Abrosca *et al.* (2007) ($R^2 = 0,991$, polpa; $R^2 = 0,999$, casca) e Leontowicz *et al.* (2003) ($R^2 = 0,92$, extrato de polpa + casca). Resultados semelhantes foram também reportados a respeito do bagaço de maçã (Ćetković *et al.*, 2008; Soares *et al.*, 2008). Curiosamente foi apenas encontrado um trabalho que relaciona o teor de fenólicos obtido por HPLC e a atividade antioxidante determinada pelo radical DPPH, e que caracteriza a correlação como forte ($r = 0,80$, fruto inteiro) e positiva (Wojdyło *et al.*, 2008).

São também vários os estudos que correlacionam positivamente, quer o teor de fenólicos determinado por Folin-Ciocalteu e a atividade redutora (FRAP) – Vieira *et al.* (2011) ($r = 0,72$, polpa; $r = 0,74$, casca), Tsao *et al.* (2005) ($r = 0,99$, polpa; $r = 0,95$, casca), Huber & Rupasinghe (2009) ($r = 0,73$, casca); Imeh & Khokhar (2002) ($R^2 = 0,58$, fruto inteiro), Khanizadeh *et al.* (2008) ($R^2 = 0,74$, polpa; $R^2 = 0,51$, casca), Khanizadeh *et al.* (2007b) ($R^2 = 0,93$, polpa; $R^2 = 0,87$, casca) e Henríquez *et al.*, 2010a (não reporta os valores) – quer o teor de fenólicos determinado por HPLC e a atividade redutora (FRAP): Wojdyło *et al.* (2008) ($r = 0,84$, fruto inteiro), Tsao *et al.* (2005) ($r = 0,99$, polpa; $r = 0,82$, casca), Khanizadeh *et al.* (2008) ($R^2 = 0,29$, polpa; $R^2 = 0,43$, casca) e Khanizadeh *et al.* (2007b) ($R^2 = 0,96$, polpa; $R^2 = 0,72$, casca).

A variação entre estudos parece ser ainda maior quando se comparam os coeficientes de correlação de alguns compostos e as principais classes de fenólicos com a atividade antioxidante demonstrada (Tabela 5.1). De facto, foram encontradas associações muito

diversas. Alguns estudos apontam para a existência de correlações positivas para alguns compostos ou classes de fenólicos, mas outros indicam precisamente o oposto.

Grande parte das correlações descritas em trabalhos anteriores apontam para uma correlação positiva entre a atividade antioxidante e os flavanóis (Wojdyło *et al.*, 2008; García *et al.*, 2009; Chinnici *et al.*, 2004b; Tsao *et al.*, 2005; Huber & Rupasinghe, 2009; Hagen *et al.*, 2007), ácidos hidroxicinâmicos (Wojdyło *et al.*, 2008; Chinnici *et al.*, 2004b), flavonóis (Wojdyło *et al.*, 2008; Chinnici *et al.*, 2004b), dihidrochalconas (Wojdyło *et al.*, 2008; Chinnici *et al.*, 2004b; Tsao *et al.*, 2005) e antocianinas (Wojdyło *et al.*, 2008; Tsao *et al.*, 2005), muito embora algumas das correlações estabelecidas não apresentem significância estatística. Existem, no entanto, alguns estudos que reportam a existência de correlações negativas, envolvendo algumas das classes de fenólicos enunciadas (Tabela 5.1).

Não foram encontrados estudos que apresentem dados relativos a correlações mais extensas e/ou que tenham envolvido a classe dos ácidos hidroxibenzóicos ou grande parte dos compostos fenólicos identificados no trabalho aqui apresentado.

Tabela 5.1. Coeficientes de correlação entre alguns compostos e as principais classes de fenólicos e a atividade antioxidante em maçãs.

Composto	Bellion <i>et al.</i> , 2010 ⁽¹⁾		Wojdyło <i>et al.</i> , 2008 ⁽¹⁾		García <i>et al.</i> , 2009 ⁽²⁾	Carbone <i>et al.</i> , 2011 ⁽³⁾	Chinnici <i>et al.</i> , 2004b ⁽¹⁾		Tsao <i>et al.</i> , 2005 ⁽¹⁾		Huber & Rupasinghe, 2009 ⁽¹⁾		Hagen <i>et al.</i> , 2007 ⁽¹⁾
	FI		FI		B	FI	P	C	P	C	C		FI
	ORAC	TEAC	DPPH	FRAP	DPPH	DPPH	DPPH		FRAP		FRAP	ORAC	ORAC
Ácidos Hidroxicinâmicos	0,60	-0,18	0,64	0,55	-	-	0,39	0,50	0,67	-0,50	-	-	-
Flavanóis	-0,33	0,68	0,59	0,63	0,84	-0,82	0,41	0,33	0,98	0,81	0,37	0,50	0,46
Antocianinas	-	-	0,04	0,09	-	-	-	-	0,10	-	-	-	-
Flavonóis	-	-	0,14	0,48	-	-	0,42	0,58	-0,14	-0,46	-0,04	0,02	-
Dihidrochalconas	-	-	0,20	0,26	-	-	0,49	0,05	0,22	0,51	-	-	-
Floridzina	-	-	-	-	0,89	-	-	-	0,13	0,64	0,31	0,29	0,51
Ácido clorogénico	-	-	-	-	0,78	-	-	-	0,61	-0,48	0,34	0,23	0,56
Procianidina B2	-	-	-	-	0,73	-	-	-	-	-	-	-	-
(+)-catequina	-	-	-	-	-	-	-	-	0,94	-0,49	0,32	0,27	-
(-)-epicatequina	-	-	-	-	-	-	-	-	0,87	0,88	0,36	0,53	0,56
Glicosídeos quercetina	-0,18	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

FI – Fruto Inteiro. B – Bagaço de maçã. P – Polpa. C – Casca.

(1) – Coeficiente de correlação de Pearson.

(2) – Regressão de mínimos quadrados *parciais*.(3) – Coeficiente de correlação obtido através da análise da regressão (r_{xy}).

5.2. DISCUSSÃO GERAL E CORRELAÇÕES

5.2.1. Análise estatística

A análise estatística consistiu inicialmente na comparação das variáveis através da Análise de Componentes Principais (ACP). Todavia, não foi possível recolher considerações muito úteis, dado que, para além do número de componentes extraídos ter sido muito elevado (12 componentes), os três componentes principais explicavam menos de 50% da variância. A análise estatística centrou-se, então, na comparação do coeficiente de correlação linear de Pearson, para avaliar a correlação entre as diversas variáveis.

Para isso fixaram-se níveis de significância estatística em $p < 0,01$ para correlações muito significativas e em $p < 0,05$ para correlações significativas, e considerou-se a classificação reportada por Callegari-Jacques (2003) para classificar a força entre as correlações encontradas: $0,00 < r < 0,30$, correlação fraca; $0,30 \leq r < 0,60$, correlação moderada; $0,60 \leq r < 0,90$, correlação forte; $0,90 \leq r < 1$, correlação muito forte. Correlações com $p > 0,05$ foram consideradas não significativas.

O tratamento estatístico foi efetuado no programa informático SPSS (IBM® SPSS® Statistics, versão 19, 2010).

5.2.2. Coeficientes de correlação de Pearson

Os dados provenientes dos vários parâmetros analisados foram estatisticamente tratados e as possíveis relações existentes entre cada uma das variáveis foram estudadas, tendo em consideração os coeficientes de correlação de Pearson. Os resultados demonstraram correlações diferenciadas, que serão detalhadas de seguida.

5.2.2.1. Cinzas e minerais

O teor de cinzas demonstrou estar forte e significativamente correlacionado ($p < 0,01$) com a concentração de sólidos totais no fruto inteiro, tal como antecipadamente previsto. Contudo, constatou-se que a associação entre o teor de sólidos totais e o teor de cinzas mostrou-se mais baixo nas variedades exóticas ($r = 0,73$) do que nas tradicionais ($r = 0,77$). Apurou-se ainda que a variedade *Reineta Parda* era responsável por reduzir a correlação evidenciada pelo grupo das variedades exóticas. De facto, esta variedade apresentou uma correlação que mostrou estar mais próxima das variedades tradicionais do que das variedades exóticas. O mesmo foi verificado em relação a outras correlações estabelecidas. Com base nestas

observações, optou-se, no caso particular dos minerais, por remover a maça *Reineta Parda* do grupo das variedades exóticas, inserindo-a no conjunto das variedades tradicionais. Após esta separação, a correlação evidenciada pelas maças exóticas subiu consideravelmente ($r = 0,94$), enquanto a exibida pelas variedades tradicionais se manteve praticamente inalterada ($r = 0,78$) (Anexo II).

Não se verificaram outras correlações fortes envolvendo o teor de cinzas, com exceção da relação significativa ($p < 0,01$) apurada nas variedades exóticas (sem a *Reineta Parda*) relativamente ao teor de Na ($r = 0,71$). A mesma correlação mostrou-se fraca e sem expressão estatística ($p > 0,05$) nas variedades tradicionais ($r = 0,13$). Considerando o universo das 17 variedades estudadas, o teor de cinzas não mostrou estar fortemente correlacionado com nenhum dos elementos minerais em particular. No entanto, os compostos Mg e Fe mostraram ser aqueles que mais se encontram associados ao teor de cinzas, embora de forma moderada (Anexo II).

No que concerne a correlações estabelecidas entre o teor de sólidos totais e os diversos compostos minerais, destacam-se as relações referentes ao K e ao Fe, que se mostraram mais elevadas e significativas ($p < 0,01$) nas variedades exóticas (sem *Reineta Parda*) ($r = 0,64$ e $r = 0,66$, respetivamente). Todos os restantes elementos demonstraram estar correlacionados de forma muito fraca e não significativa ($p > 0,05$) com o teor de sólidos totais (Anexo II).

Relativamente ao perfil de minerais, foram encontradas variações entre alguns compostos no grupo das variedades exóticas que importa destacar. De facto, observou-se a existência de correlações muito fortes e significativas ($p < 0,01$) no grupo das variedades exóticas (sem a *Reineta Parda*) entre o teor de K e o de Mn ($r = 0,91$) e entre o teor de Ni e o de Zn ($r = 0,96$), correlações estas que nas variedades tradicionais (incluindo a *Reineta Parda*) se mostraram significativas, mas menos intensas (correlações fortes) (Anexo II). A correlação entre o Ca e o Fe também evidenciou o mesmo padrão, isto é mostrou-se muito forte, apesar de negativa, o que indica que o teor de Fe aumenta com a diminuição da concentração de Ca, nas variedades exóticas em particular.

Foram também encontradas diversas correlações de intensidade inferior entre alguns compostos minerais, ainda assim fortes e significativas ($p < 0,01$), muito embora quase sempre mais intensas no conjunto das variedades exóticas do qual se excluiu a maça *Reineta Parda*. As exceções ocorreram sobretudo nas relações entre o Na e o Mg, entre o Fe e o Na, e entre o Fe e o Mo que, apesar de positivas, mostraram-se mais elevadas no agrupamento das variedades tradicionais exóticas (incluindo a *Reineta Parda*) do que no das variedades exóticas (sem a *Reineta Parda*). No entanto, não foi possível tirar conclusões que se mostrassem plausíveis, tanto mais que tendo em consideração as 17 variedades estudadas as correlações

encontradas evidenciaram quase sempre uma ligação fraca, ou moderada e grande parte das vezes não significativa ($p > 0,05$), entre os diversos elementos minerais (Anexo II).

Os compostos minerais quantificados no fruto inteiro parecem não ter qualquer relação com o teor de fenólicos ou a atividade antioxidante apurada no universo das maçãs estudadas. De entre todas as correlações avaliadas, apenas o Zn mostrou estar significativamente correlacionado ($p < 0,01$), embora de forma moderada, com o teor de fenólicos ($r = 0,46$) (Figura 5.1). A relação deste elemento para com a atividade antioxidante (FRAP e DPPH) mostrou-se igualmente moderada, muito embora com menos relevância e significativa apenas ao nível de $p < 0,05$ (FRAP: $r = 0,36$; DPPH: $r = 0,35$). O Mn evidenciou também uma correlação moderada relativamente à atividade antirradicalar (DPPH) ($r = 0,34$), todavia sem significância estatística ($p > 0,05$), mas fraca em relação ao teor de fenólicos e à atividade redutora (FRAP). Os restantes elementos evidenciaram uma relação fraca, positiva ou negativa, para com o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante.

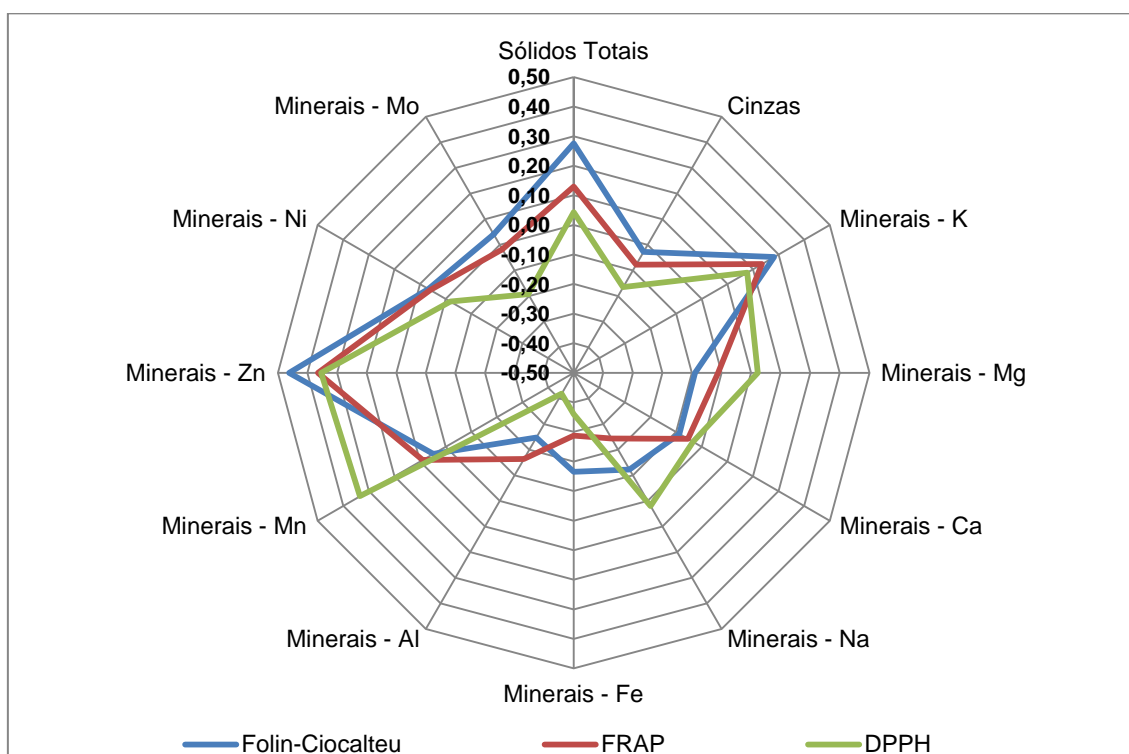


Figura 5.1. Correlação de Pearson entre o teor de sólidos totais, cinzas e compostos minerais, relativamente aos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) no fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Não foram observadas quaisquer correlações fortes ou muito fortes entre nenhum dos elementos minerais e os diversos compostos fenólicos identificados por HPLC. As correlações mostraram-se todas elas moderadas ou fracas, na sua maioria sem significância estatística ($p > 0,05$), o que demonstra que as variações que possam ocorrer no teor de minerais,

nomeadamente naqueles que foram analisados, não influenciam significativamente a concentração de fenólicos, designadamente promovendo uma eventual situação de *stress* fisiológico que pudesse motivar uma formação reforçada deste tipo de metabolitos.

Também não foi observada uma correlação significativa ($p > 0,05$) entre o teor dos diversos minerais e a atividade antioxidante das maçãs estudadas, mesmo quando segmentadas nos grupos de variedades tradicionais e exóticas, e retirando-se ou não a *Reineta Parda* deste último agrupamento.

Este resultado indica que o contributo da componente mineral para a actividade antioxidante das maçãs, a existir, não é tão importante que se sobreponha ou que complemente as variações nesta atividade devidas às variações nas concentrações dos seus componentes orgânicos.

5.2.2.2. Fósforo

A maçã *Reineta Parda* não evidenciou um carácter diferenciador que justificasse ser retirada do grupo das exóticas, no que diz respeito às correlações envolvendo o fósforo. A concentração deste elemento mostrou estar de alguma forma significativamente correlacionada ($p < 0,01$) com o teor de sólidos totais, mas apenas na polpa e foi mais elevada nas variedades exóticas (com a *Reineta Parda*) ($r = 0,85$) do que nas cultivares tradicionais ($r = 0,57$). Alguns minerais, nomeadamente o Mg ($r = 0,49$), o Na ($r = 0,47$), o Fe ($r = 0,56$) e o Mo ($0,49$) mostraram estar moderada e significativamente ($p < 0,01$) associados ao teor de fósforo demonstrado pelo fruto inteiro, no universo das variedades estudadas. Não se observaram relações relevantes deste composto relativamente ao perfil de fenólicos, ao teor de fenólicos e à atividade antioxidante, nem a qualquer outro parâmetro analisado.

5.2.2.3. Azoto

O teor de azoto mostrou estar associado ao teor de açúcares e à acidez titulável, sobretudo nas variedades exóticas, incluindo a maçã *Reineta Parda*. Neste domínio, a referida variedade mostrou estar mais relacionada com as cultivares exóticas do que com as tradicionais, pelo que foi mantida no grupo das variedades exóticas. O azoto é um elemento presente em muitos componentes celulares, como por exemplo nas proteínas ou nos ácidos nucleicos, e existe numa proporção comparável aos açúcares e aos ácidos orgânicos, que são outros macrocomponentes das maçãs. Destacam-se as correlações com os açúcares não redutores ($r = 0,86$) nas variedades exóticas, que demonstraram estar forte e significativamente ($p < 0,01$)

associadas ao teor de azoto, e também a correlação com a acidez titulável que demonstrou uma associação muito forte ($r = 0,94$) e relevante ($p < 0,01$) com este parâmetro (Tabela 5.2).

O conteúdo em compostos azotados parece, pois, variar de forma análoga ao teor de ácidos orgânicos e ao teor de açúcares não redutores em maçãs. O que não é de todo estranho, pois são parâmetros que são condicionados pela variedade da maçã e que diminuem frequentemente ao longo do período de maturação. Já os açúcares totais, que resultam da combinação entre açúcares redutores e não redutores que podem variar de forma inversa durante o período de maturação, não mostraram estar correlacionados com o teor de azoto das variedades exóticas.

Tabela 5.2. Correlações de Pearson entre o teor de azoto e o teor de açúcares e acidez titulável de variedades exóticas e tradicionais.

Variedades	Açúcares Redutores	Açúcares Não Redutores	Açúcares Totais	Acidez Titulável
Exóticas	0,62**	0,86**	-0,12	0,94**
Tradicionais	0,26	0,47*	0,49*	0,64**

** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$.

Não se observaram outras correlações relevantes envolvendo o teor de azoto. Importa salientar que a concentração deste composto não mostrou estar significativamente correlacionada ($p > 0,05$) com o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) nem com a atividade antioxidante, o que significa que estas actividades não recebem uma contribuição significativa de compostos azotados.

5.2.2.4. Fibras

O teor de fibras não evidenciou influenciar de forma relevante nenhum dos parâmetros analisados. Relativamente à atividade antioxidante demonstrada pelo conjunto das 17 variedades estudadas, algumas correlações mostraram mesmo uma associação negativa fraca, nomeadamente em relação à casca (FRAP: $r = -0,29$; DPPH: $r = -0,34$). Na polpa, os resultados foram mais ambíguos e mostraram existir uma relação positiva entre o teor de fibras e a atividade redutora (FRAP) ($r = 0,31$), mas negativa, embora sem expressão, relativamente à atividade antirradicalar (DPPH) ($r = -0,03$). No fruto inteiro a correlação mostrou-se negativa quer para o FRAP ($r = -0,06$), quer para o DPPH ($r = -0,31$). No entanto, todas as correlações enunciadas revelaram um carácter estatístico não significativo ($p > 0,05$). Estes dados estão em acordo com o trabalho de Leontowicz e colaboradores (Leontowicz *et al.*, 2003), que reporta a existência de uma baixa correlação entre o conteúdo em fibra e a atividade redutora (FRAP).

5.2.2.5. Açúcares

Relativamente às correlações envolvendo o teor de açúcares, encontraram-se pequenas diferenças entre as variedades exóticas e tradicionais que não justificaram a análise em separado dos referidos grupos. Para além da correlação com o azoto, referida anteriormente, não foram encontradas outras que se tenham mostrado relevantes.

O teor de açúcares totais (polpa) revelou uma correlação positiva moderada com a atividade antiradicalar DPPH ($r = 0,48$), e uma correlação positiva fraca com o poder redutor FRAP ($r = 0,25$), muito embora sem significância estatística ($p > 0,05$). Este resultado é consistente com as conclusões apresentadas por outros estudos (Vieira *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008). Os resultados obtidos elucidam ainda que o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) não se mostra dependente do teor de açúcares totais ($r = 0,09$; $p > 0,05$).

A relação entre os açúcares redutores e a atividade antioxidante evidenciou a existência de correlações moderadas em relação ao FRAP ($r = 0,52$) e moderadamente negativa relativamente ao DPPH ($r = -0,33$). Ambos os resultados foram referenciados estatisticamente como não significativos ($p > 0,05$), tal como a correlação com o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) ($r = -0,19$).

No que respeita aos açúcares não redutores observou-se a existência de uma correlação moderada ($r = 0,48$) mas significativa ($p < 0,01$) relativamente ao DPPH, e fraca ($r = 0,23$) e não significativa ($p > 0,05$) relativamente ao FRAP. Já a relação com o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) mostrou-se também ela moderada ($r = 0,35$) e significativa, embora apenas ao nível de $p < 0,05$.

Não foram encontradas referências na literatura a respeito de correlações envolvendo os açúcares redutores e não redutores, que pudessem ser comparados com os dados aqui apresentados.

5.2.2.6. Acidez titulável

Não se observaram variações relevantes entre as variedades exóticas e tradicionais, relativamente às correlações com a acidez titulável, para além da correlação com o teor de proteínas abordada anteriormente, pelo que se considerou a análise das 17 variedades estudadas. A relação com os açúcares também não se mostrou significativa ($p > 0,05$). Apesar do referido, foi encontrada uma correlação forte ($r = 0,63$) e significativa ($p < 0,01$) entre o teor de acidez titulável e a atividade antiradicalar (DPPH) demonstrada pelo universo das variedades estudadas. Contudo, a correlação evidenciada relativamente à atividade redutora

(FRAP) revelou-se fraca ($r = 0,20$) e não significativa ($p > 0,05$), em acordo com o reportado em estudos anteriores (Hagen *et al.*, 2007; Vieira *et al.*, 2009; Drogoudi *et al.*, 2008). Semelhante conclusão foi observada na relação com o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) ($r = 0,14$). Todas as demais correlações efetuadas, nomeadamente relacionando a acidez titulável com a concentração dos diversos compostos fenólicos identificados, revelaram não ser estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.2.7. Rácio açúcares/acidez

A pequena variação dos coeficientes de correlação não justificou a análise segmentada entre variedades exóticas e tradicionais, pelo que os resultados foram analisados tendo em consideração as 17 variedades estudadas. O rácio açúcares/acidez não evidenciou correlações relevantes com nenhum dos parâmetros analisados, com exceção da correlação forte com o teor de acidez titulável – que como seria de esperar mostrou estar inversamente relacionado ($r = -0,87$; $p < 0,01$) – e da correlação moderada com a atividade antirradicalar (DPPH) ($r = -0,53$; $p < 0,01$). Não se observaram outras correlações relevantes, nomeadamente em relação ao perfil de fenólicos, ao teor de fenólicos totais e à atividade antioxidante.

5.2.2.8. Atividade nutracêutica

5.2.2.8.1. Classes de fenólicos

Como foi abordado em capítulos anteriores, o teor de fenólicos tem sido frequentemente associado à atividade antioxidante em maçãs. Contudo, existe um debate intenso acerca dos compostos que apresentam uma correlação mais relevante neste domínio.

De entre todas as correlações testadas no trabalho aqui apresentado, e tendo em consideração o conjunto das variedades estudadas, os fenólicos mostraram ser, de facto, os principais contribuidores para a atividade antioxidante em maçãs. Procurou-se avaliar as correlações existentes entre cada classe de compostos individuais e o teor de compostos fenólicos totais. A classe dos flavanóis provou ser aquela que maior participação exhibe nesta relação, evidenciando estar forte e significativamente ($p < 0,01$) correlacionada com o teor de fenólicos determinado pelo método Folin-Ciocalteu, em todas as porções do fruto (polpa: $r = 0,79$; casca: $r = 0,69$; e fruto inteiro: $r = 0,77$) (Figura 5.2). Por outro lado, as antocianinas presentes na casca, mostraram estar pouco correlacionadas com o teor de fenólicos, numa relação que se mostrou inversa ($r = -0,14$), contudo de forma não significativa ($p > 0,05$). Na polpa, os ácidos hidroxicinâmicos exibiram uma associação idêntica, muito embora com maior intensidade. Importa ainda referir o papel muito relevante ($p < 0,01$) desempenhado por outras classes de

compostos na polpa, designadamente dihidrochalconas ($r = 0,70$) e ácidos hidroxibenzóicos ($r = 0,64$), mas também pelos flavonóis, apesar desta última associação se mostrar apenas de intensidade moderada ($r = 0,39$) e menos determinante ($p < 0,05$). Na casca, merece ser salientado a contribuição moderada mas muito significativa ($p < 0,01$) dos ácidos hidroxibenzóicos ($r = 0,59$), dos flavonóis ($r = 0,54$), dos ácidos hidroxicinâmicos ($r = 0,53$) e das dihidrochalconas ($r = 0,42$). Contudo, o nível de significância desta última classe ficou estabelecida num nível inferior ($p < 0,05$). Os compostos hidroxicinâmicos mostraram, pois, contribuir muito mais para o teor de fenólicos da casca do que da polpa, fração onde evidenciaram estar inversamente associados.

Estes resultados demonstram que todas estas classes de compostos se comportam de forma semelhante na reação de Folin-Ciocalteu, pelo que a sua correlação com o teor de fenólicos totais, avaliada por esta reação, é tão mais forte quanto mais elevada for a sua concentração.

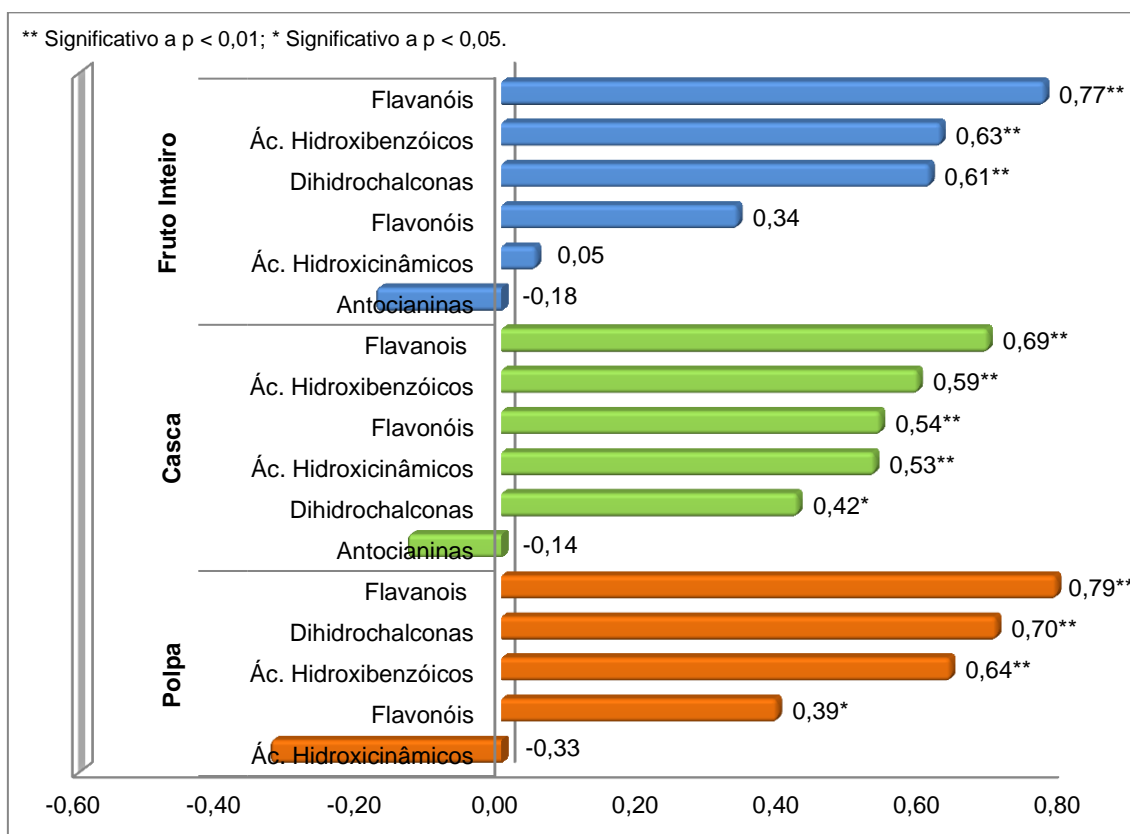


Figura 5.2. Correlações entre as classes de fenólicos e o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

As classes de fenólicos atrás referidas mostraram correlacionar-se também de forma muito diversa com a atividade antioxidante (Figuras 5.3 e 5.4). Os flavanóis, a classe de fenólicos

mais representativa em maçãs, demonstraram ser os que mais se correlacionam com a atividade antioxidante. Esta correlação pode ser classificada como forte e significativa ($p < 0,01$) na associação quer com a atividade redutora (FRAP) ($r = 0,69$ e $r = 0,79$, respetivamente na polpa e na casca), quer com a atividade antirradicalar (DPPH), mas, neste caso, apenas na casca ($r = 0,66$), dado que a correlação exibida pela polpa se mostrou fraca ($r = 0,25$) e não significativa ($p > 0,05$). Estes dados estão de acordo com o reportado por outros trabalhos (Vanzani *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2002; Chinnici *et al.*, 2004b), que indicam que os flavanóis são a classe que mais contribui para a atividade antioxidante em maçãs.

Os flavonóis mostraram estar moderada e significativamente ($p < 0,01$) correlacionados quer com o FRAP ($r = 0,59$ e $r = 0,48$, respetivamente na polpa e na casca), quer com o DPPH, mas neste último apenas no que respeita à polpa ($r = 0,55$), uma vez que a relação na casca se mostrou um pouco mais fraca ($r = 0,39$), e significativa apenas ao nível de $p < 0,05$.

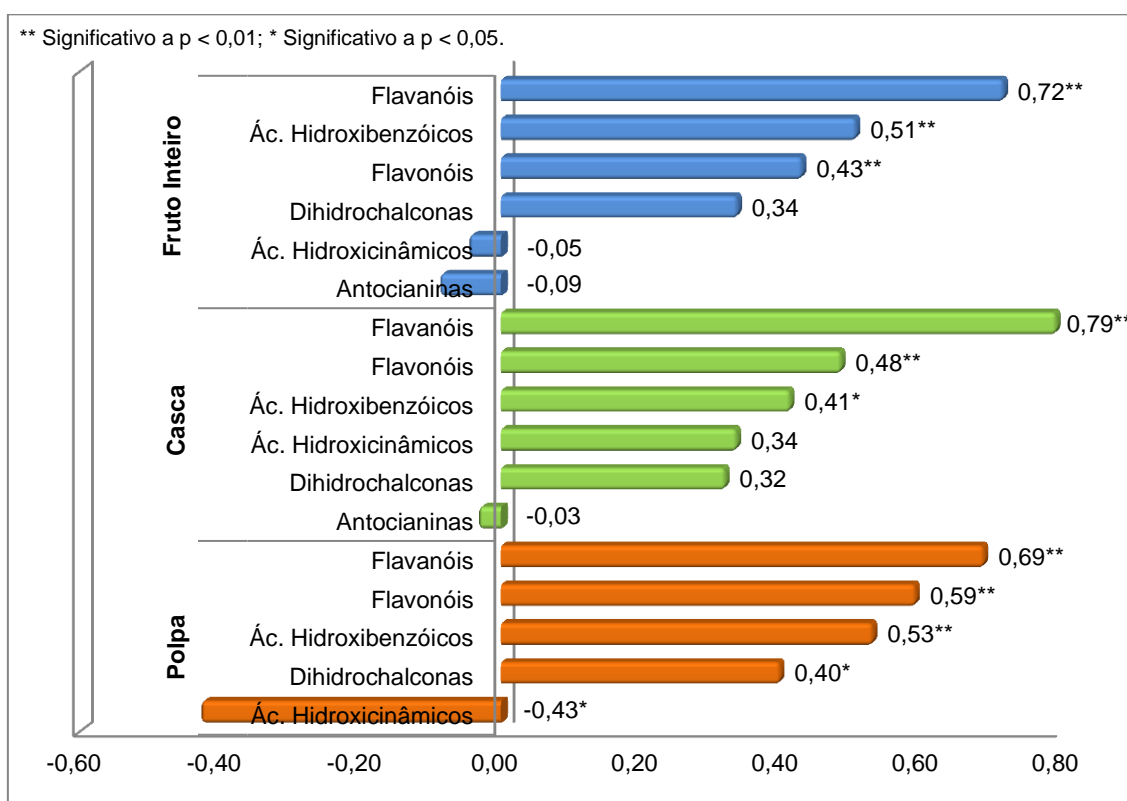


Figura 5.3. Correlações entre as classes de fenólicos e a atividade redutora (FRAP), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

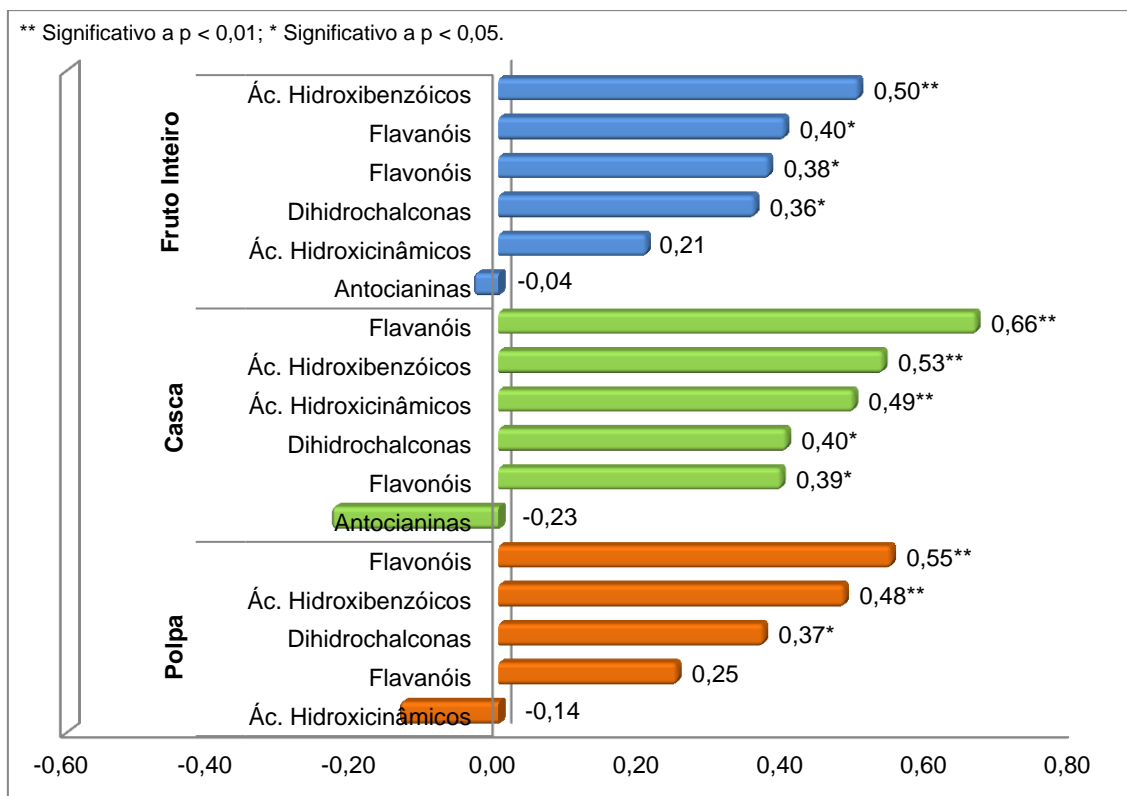


Figura 5.4. Variáveis fortemente correlacionadas com a atividade antirradicalar (DPPH), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Os ácidos hidroxibenzóicos – uma classe sobre a qual não foram encontradas correlações descritas em trabalhos anteriores – evidenciaram uma correlação positiva, embora moderada, com expressão estatística significativa, quer na associação relativamente à atividade redutora (FRAP) ($r = 0,53$, $p < 0,01$; e $r = 0,41$, $p < 0,05$; respetivamente na polpa e na casca), quer em relação à atividade antirradicalar (DPPH) ($r = 0,48$, $p < 0,01$; e $r = 0,53$, $p < 0,01$; respetivamente na polpa e na casca).

As dihidrochalconas evidenciaram uma correlação menos significativa ($p < 0,05$) e mais modesta, ainda assim positiva, quer em relação ao DPPH ($r = 0,37$ e $r = 0,40$, respetivamente na polpa e na casca), quer em relação ao FRAP, mas neste último apenas relativamente à polpa ($r = 0,40$), dado que a relação na casca ($r = 0,32$), apesar de moderada, revelou-se não significativa ($p > 0,05$).

A correlação apurada entre os ácidos hidroxicinâmicos e a atividade antioxidante revelou coeficientes de correlação muito distintos no que respeita às frações polpa e casca, tal como de resto foi apurado na relação com os fenólicos determinados pelo método Folin-Ciocalteu. De facto, se por um lado a correlação desta classe de compostos se mostrou positiva em relação à casca ($r = 0,34$, $p > 0,05$, no FRAP; $r = 0,49$, $p < 0,01$, no DPPH), relativamente à polpa mostrou ser negativa ($r = -0,43$, $p < 0,05$, no FRAP; $r = -0,14$, $p > 0,05$, no DPPH).

As antocianinas, presentes apenas na casca, evidenciaram uma correlação não significativa ($p > 0,05$), fraca e negativa, tanto em relação à atividade redutora (FRAP) ($r = -0,03$) como em relação à atividade antirradicalar (DPPH) ($r = -0,23$). Estes dados estão em acordo com dados reportados em estudos anteriores (Wojdyło *et al.*, 2008; Tsao *et al.*, 2005), que atribuem às antocianinas uma correlação muito fraca com a atividade antioxidante. Contudo, no decurso desta análise surgiu a dúvida de que a análise conjunta das 17 variedades pudesse estar a prejudicar a correlação destes compostos, tanto mais que algumas variedades mostraram não possuir antocianinas. Com base neste pressuposto, efetuou-se a correlação considerando-se apenas as variedades com antocianinas. O resultado voltou a colocar as antocianinas exatamente na base da tabela de correlações, reforçando ainda mais os coeficientes no sentido da associação inversa (Tabela 5.3). Este exercício permitiu concluir com muita clareza que as antocianinas não estão associadas ao teor de fenólicos e à atividade antioxidante demonstrada pelo fruto.

Tabela 5.3. Coeficientes de correlação de Pearson relativos à correlação entre antocianinas e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH) em variedades com antocianinas.

Composto	Folin-Ciocalteu	FRAP	DPPH
Antocianina 2	-0,19	-0,10	-0,25
Antocianina 3	-0,19	-0,11	-0,25
Antocianina 1	-0,24	-0,17	-0,43
Antocianinas Totais	-0,25	-0,17	-0,42
Variedades envolvidas na correlação: <i>Porta da Loja</i> , <i>Querina</i> , <i>Pipo de Basto</i> , <i>Maçã Espelho</i> , <i>Casa Nova de Alcobaca</i> , <i>Maçã Camoesa da Azoia</i> , <i>Maçã Branca</i> , <i>Starking</i> , <i>Jonagold</i> , <i>Fuji</i> e <i>Royal Gala</i> .			
As correlações não revelaram significância estatística ($p > 0,05$).			

Considerando o fruto inteiro (polpa + casca), e a média das correlações existentes para com a atividade antioxidante FRAP e DPPH, as classes de compostos seriam ordenadas, de forma decrescente do seu coeficiente de correlação, da seguinte maneira: flavanóis, ácidos hidroxibenzóicos, flavonóis, dihidrochalconas, ácidos hidroxicinâmicos e antocianinas, ordem esta que corresponde sensivelmente à sua abundância relativa na polpa e casca das maçãs estudadas.

Conclui-se, portanto, que os diferentes grupos de compostos estudados apresentam atividades antirradicais e propriedades redutoras comparáveis, pelo que a sua correlação com estes dois parâmetros de avaliação da atividade antioxidante é proporcional à sua concentração.

5.2.2.8.2. Carotenóides totais

Diversos estudos (Halvorsen *et al.*, 2002; Malin *et al.*, 2003; Joshipura *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2009; Gaziano *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2007; Maiani *et al.*, 2009) têm feito referência aos potenciais efeitos positivos na saúde dos carotenóides, nomeadamente na prevenção do cancro, decorrentes da atividade antioxidante demonstrada por estes compostos.

No caso particular dos dados aqui apresentados, e em termos gerais, não se observou uma correlação significativa entre o teor de carotenóides totais das 17 variedades estudadas e o teor de fenólicos totais ou a atividade antioxidante. Os coeficientes de Pearson mostraram-se fracos e sem relevância estatística ($p > 0,05$), quer na polpa (Folin-Ciocalteu: $r = 0,04$; FRAP: $r = 0,28$; DPPH: $r = 0,29$) quer na casca (Folin-Ciocalteu: $r = 0,10$; FRAP: $r = 0,11$; DPPH: $0,09$).

Tal como em relação à atividade antioxidante, também não se observaram quaisquer correlações significativas entre o teor de carotenóides e as restantes variáveis avaliadas.

Este resultado não significa que os carotenóides não possuam uma atividade antioxidante elevada, significa apenas que a combinação da sua atividade específica e da sua concentração nesta matriz não influenciam de forma determinante esta propriedade.

5.2.2.8.3. Perfil de fenólicos e atividade antioxidante

No sentido de apurar quais os compostos que mais se encontram relacionados com o teor de fenólicos determinado pelo método Folin-Ciocalteu e com a atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e FRAP, avaliou-se a correlação das concentrações de todos os compostos identificados por HPLC em todas as 17 variedades analisadas. O resultado corroborou os dados apresentados anteriormente, aquando da classificação por classes, e mostrou que são sobretudo os flavanóis 2, 3, 4, e 5, a procianidina B2 e a (–)-epicatequina que mais se encontram associados com o teor de fenólicos da matriz (Figura 5.5). Todavia, outros compostos mostraram também estar forte e significativamente ($p < 0,01$) correlacionados com o teor de fenólicos determinado pelo método Folin-Ciocalteu, nomeadamente os compostos ácido gálico e derivado de floretina 1 na polpa, floretina, flavonóis 3 e 4 e ácido hidroxibenzóico na casca, e ácido p-cumárico quer na polpa, quer na casca.

Constatou-se ainda que o teor de fenólicos determinado pelas técnicas Folin-Ciocalteu e HPLC se encontram forte e significativamente correlacionados ($p < 0,01$), tanto na polpa ($r = 0,83$) como na casca ($r = 0,88$), o que legitima a utilização do método Folin-Ciocalteu para a determinação de fenólicos totais.

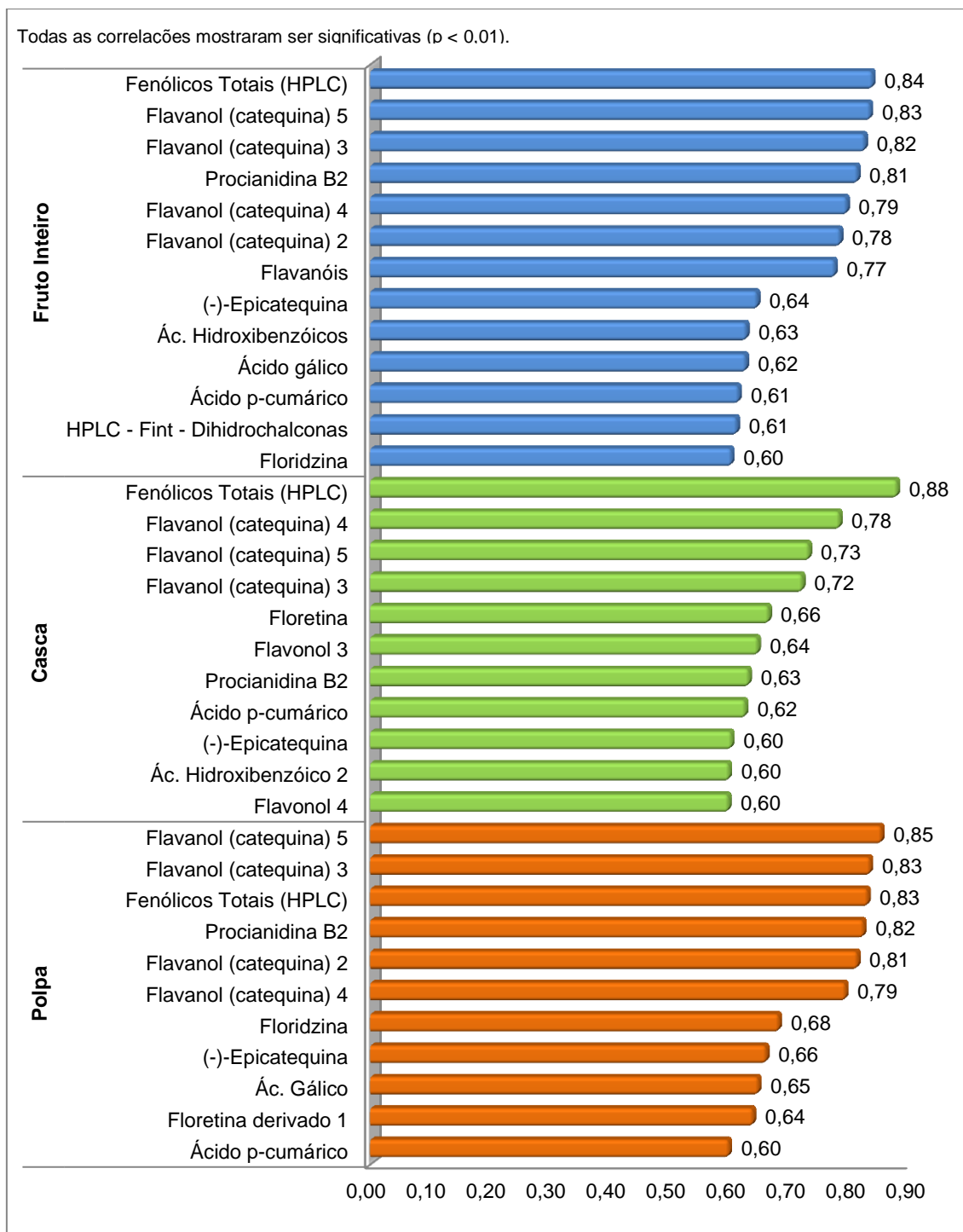


Figura 5.5. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Relativamente à atividade antioxidante, o teor de fenólicos totais determinado pelo método Folin-Ciocalteu mostrou estar mais fortemente relacionado com a atividade redutora (FRAP) do que com a atividade antirradicalar (DPPH), nomeadamente na polpa ($r = 0,82$; $r = 0,52$) e no fruto inteiro ($r = 0,86$; $r = 0,72$) (Figuras 5.6 e 5.7). A correlação mostrou ser ainda mais forte na

casca mas, neste caso, superior no DPPH ($r = 0,93$) do que no FRAP ($r = 0,90$). Todos os valores referidos mostraram ser significativos ($p < 0,01$).

Este resultado evidencia as diferenças entre os mecanismos da atividade antioxidante que apesar de análogos não são exatamente iguais em cada teste utilizado, pelo que se observam algumas diferenças nas respostas de diferentes compostos. A correlação muito forte observada na casca indica que a atividade antioxidante desta fração resulta quase exclusivamente da presença de compostos fenólicos, enquanto na polpa esta correlação é apenas forte, o que poderá significar que outros componentes também contribuem para estas atividades.

Por outro lado, observou-se que o teor de fenólicos medido por HPLC – apesar de também se mostrar correlacionado com a atividade redutora (FRAP) e com a atividade antirradicalar (DPPH) – evidenciou uma associação menos intensa e com valores mais discrepantes, em comparação com o apurado pelo método Folin-Ciocalteu, como comprovam os coeficientes de correlação de Pearson obtidos (respetivamente para FRAP e DPPH): polpa ($r = 0,71$; $r = 0,37$), casca ($r = 0,86$; $r = 0,71$) e fruto inteiro ($r = 0,74$; $r = 0,51$). Apesar das diferenças, os coeficientes de correlação de Pearson relacionados com o teor de fenólicos totais – determinado quer pelo método Folin Ciocalteu, quer por HPLC –, mostraram ser significativos a $p < 0,01$, com exceção da relação entre o teor de fenólicos determinado por HPLC na casca e a atividade antioxidante (DPPH) ($r = 0,37$), que mostrou ser significativa mas apenas ao nível de $p < 0,05$.

Outro dado que importa ressaltar é o facto da atividade antioxidante exibir uma correlação mais elevada com o conteúdo de fenólicos totais determinado pelo método Folin-Ciocalteu do que com o obtido por HPLC, o que está de acordo com conclusões apresentadas por trabalhos anteriores (Tsao *et al.*, 2005; Hagen *et al.*, 2007; Khanizadeh *et al.*, 2008). Os dois métodos apresentam características específicas que justificam estas diferenças: o método de Folin-Ciocalteu avalia a presença de compostos fenólicos totais e também dá uma resposta positiva para compostos redutores não fenólicos que possam existir na matriz; já o método de HPLC apenas determina os compostos fenólicos separados e detetados nas condições analíticas excluindo, portanto, outros componentes não fenólicos mas que podem reagir nas condições da reação de Folin-Ciocalteu.

Para além do mais, independentemente do método utilizado para a determinação do teor de fenólicos totais, observou-se sempre uma correlação mais elevada por parte da casca em relação à atividade antioxidante (DPPH e FRAP) do que por parte da polpa, o que está igualmente conducente com trabalhos anteriores (Manzoor *et al.*, 2012; Drogoudi *et al.*, 2008; D'Abrosca *et al.*, 2007; Chinnici *et al.*, 2004b). No entanto, também se encontraram referências na literatura que enunciam precisamente o contrário, ou seja, a existência de uma maior

correlação na polpa do que na casca (Tsao *et al.*, 2005; Khanizadeh *et al.*, 2008; Khanizadeh *et al.*, 2007b; Vieira *et al.*, 2011).

Constatou-se ainda que a atividade redutora (FRAP) demonstra estar significativamente correlacionada ($p < 0,01$) com a atividade antirradicalar (DPPH), muito embora esta associação se mostre mais forte na casca ($r = 0,87$) do que na polpa ($r = 0,58$).

Numa leitura mais ampla, e tendo em consideração as correlações existentes relativamente à atividade redutora (FRAP), constatou-se que os compostos flavanóis desconhecidos 5, 2, 4 e 3, e a procianidina B2 (este último em acordo com García e colaboradores (García *et al.*, 2009)), mostraram estar forte e significativamente ($p < 0,01$) correlacionados com a atividade antioxidante em todas as frações do fruto analisadas, tal como demonstraram outros flavanóis nas frações casca ((-)-epicatequina e (+)-catequina) e polpa (flavanol 6) (Figura 5.6). No decurso destes resultados, a classe dos flavanóis revelou estar fortemente relacionada com a atividade antioxidante. No que respeita a compostos de outras classes, apenas a floretina, no fruto inteiro, o ácido p-cumárico e o flavonol desconhecido 3, na casca, e a quercitrina na polpa, mostraram estar também fortemente correlacionados com a atividade antioxidante evidenciada pelas diversas maçãs.

Apesar dos compostos (-)-epicatequina e (+)-catequina exibirem uma correlação forte com a atividade redutora (FRAP) da casca ($r = 0,69$, $p < 0,01$; e $r = 0,64$, $p < 0,01$; respetivamente), o mesmo não acontece em relação à polpa ($r = 0,51$, $p < 0,01$; e $r = 0,32$, $p > 0,05$; respetivamente) e ao fruto inteiro ($r = 0,57$, $p < 0,01$; e $r = 0,37$, $p < 0,05$; respetivamente), onde a relação mostrou ser apenas moderada (Figuras 5.8 e 5.9). Estes dados não estão de acordo com aqueles reportados por Tsao e colaboradores (Tsao *et al.*, 2005), que dão conta de uma correlação superior na polpa e uma associação inversa na casca. No que concerne à atividade antirradicalar (DPPH), a (-)-epicatequina evidenciou uma correlação mais elevada na casca ($r = 0,57$; $p < 0,01$) do que na polpa ($r = 0,03$; $p > 0,05$). Relativamente à (+)-catequina o teor revelado pela casca mostrou estar fortemente correlacionado com a atividade antirradicalar ($r = 0,60$, $p < 0,01$), ao contrário da polpa que evidenciou uma correlação inversa ($r = -0,13$; $p > 0,05$). Estes dados estão mais relacionados com o reportado por Tsao e colaboradores (Tsao *et al.*, 2005), apesar da técnica utilizada ser diferente.

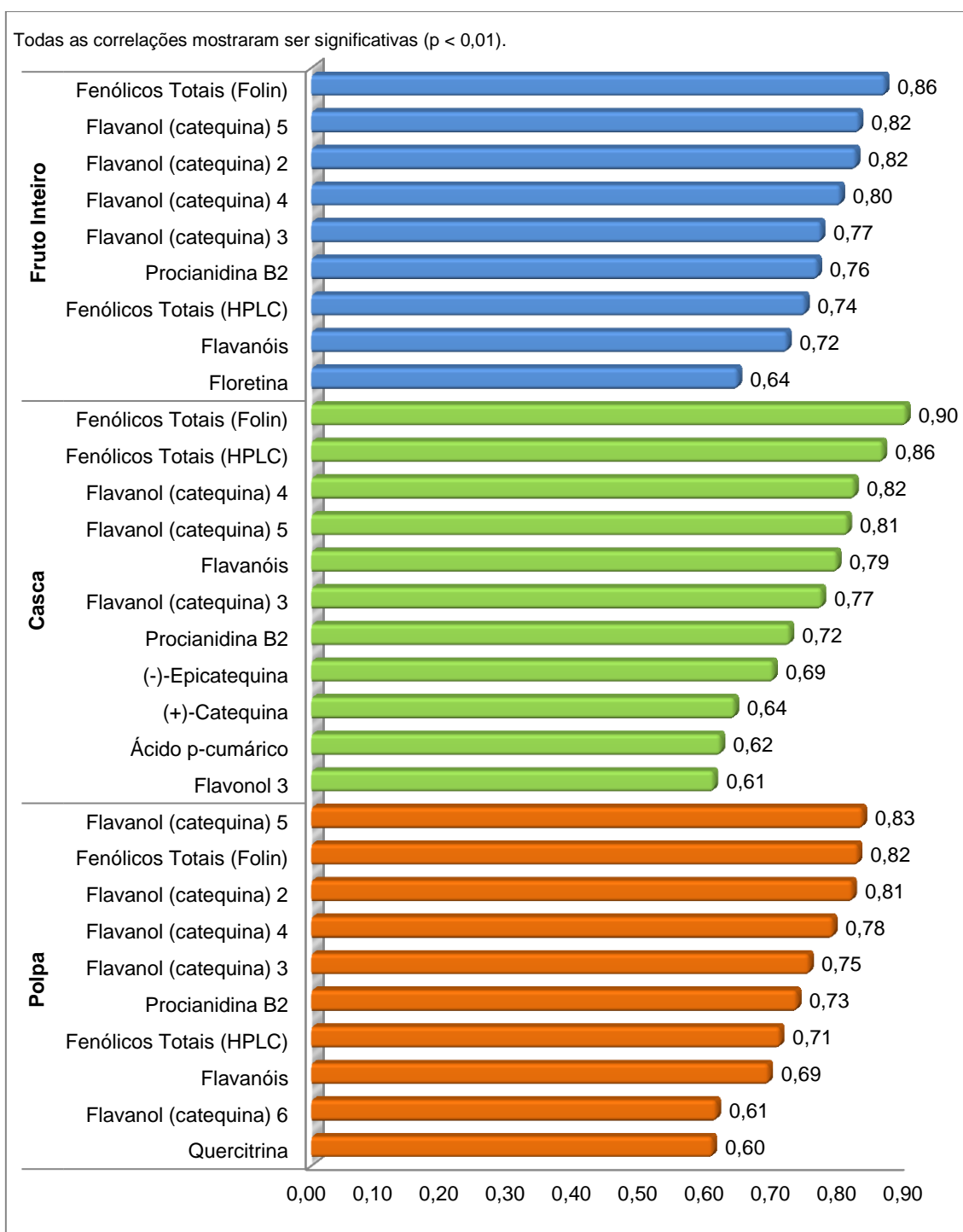


Figura 5.6. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com a atividade antioxidante (FRAP), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

No que concerne à atividade antirradicalar (DPPH) foram poucos os compostos que evidenciaram uma forte correlação com significância estatística ao nível de $p < 0,01$ (Figura 5.7). De facto, apenas a floretina ($r = 0,63$ e $r = 0,84$, respetivamente na polpa e fruto inteiro), a quercetina ($r = 0,65$) no fruto inteiro e os flavanóis 4 ($r = 0,73$), 5 ($r = 0,70$) e 3 ($r = 0,69$), a floretina ($r = 0,63$) e a (+)-catequina ($r = 0,60$) na casca, mostram estar fortemente correlacionados com a atividade antirradicalar (DPPH).

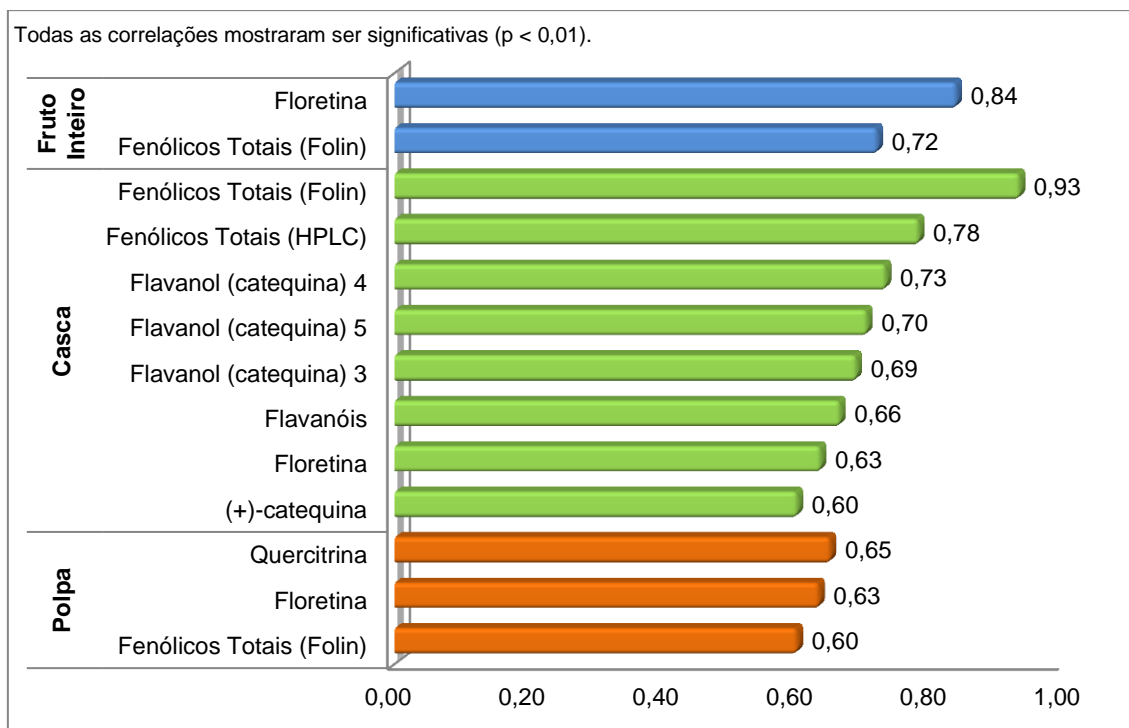


Figura 5.7. Compostos fenólicos fortemente correlacionados com a atividade antioxidante (DPPH), na polpa, casca e fruto inteiro de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Outros compostos demonstraram estar também associados positivamente com a atividade antioxidante. O ácido clorogénico, um ácido hidroxicinâmico presente em grande quantidade em maçãs, demonstrou uma correlação moderada relativamente à atividade antioxidante (FRAP e DPPH, respetivamente) quer na polpa ($r = 0,34$, $p > 0,05$; e $r = 0,43$, $p < 0,01$), quer na casca ($r = 0,35$, $p > 0,05$; e $r = 0,48$, $p < 0,01$), tal como a floridzina ($r = 0,45$, $p < 0,01$; e $r = 0,37$, $p < 0,05$, na polpa; e $r = 0,34$, $p > 0,05$; e $r = 0,41$, $p < 0,05$, na casca). Estes dados estão de acordo com trabalhos anteriores (Tsao *et al.*, 2005 ; Huber & Rupasinghe, 2009; Hagen *et al.*, 2007).

A quercetina – um composto que alguns estudos apontam como provavelmente associado à diminuição do risco de algumas formas de cancro, nomeadamente do pulmão (W.C.R.F./A.I.C.R., 2007; Marchand *et al.*, 2000; Knekt *et al.*, 1997) – mostrou estar moderadamente correlacionado com a atividade redutora (FRAP) evidenciada pela polpa ($r = 0,42$; $p < 0,05$) e pela casca ($r = 0,54$; $p < 0,01$), mas menos com a atividade antirradicalar (DPPH) ($r = 0,23$, $p > 0,05$; e $r = 0,38$, $p < 0,05$; respetivamente na polpa e na casca) (Figuras 5.8 e 5.9).

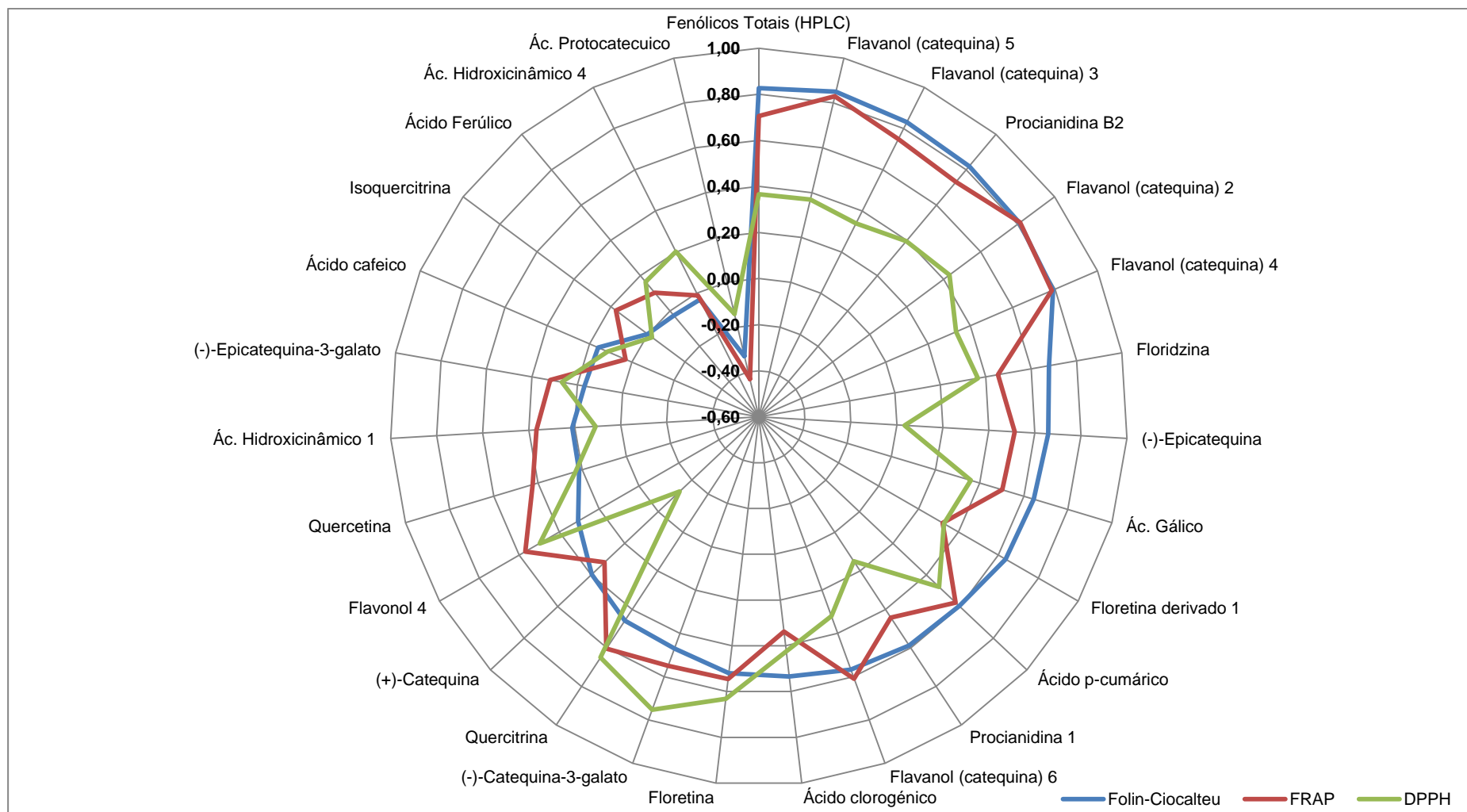


Figura 5.8. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC relativamente ao teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) na polpa de 17 variedades de maçãs de Portugal.

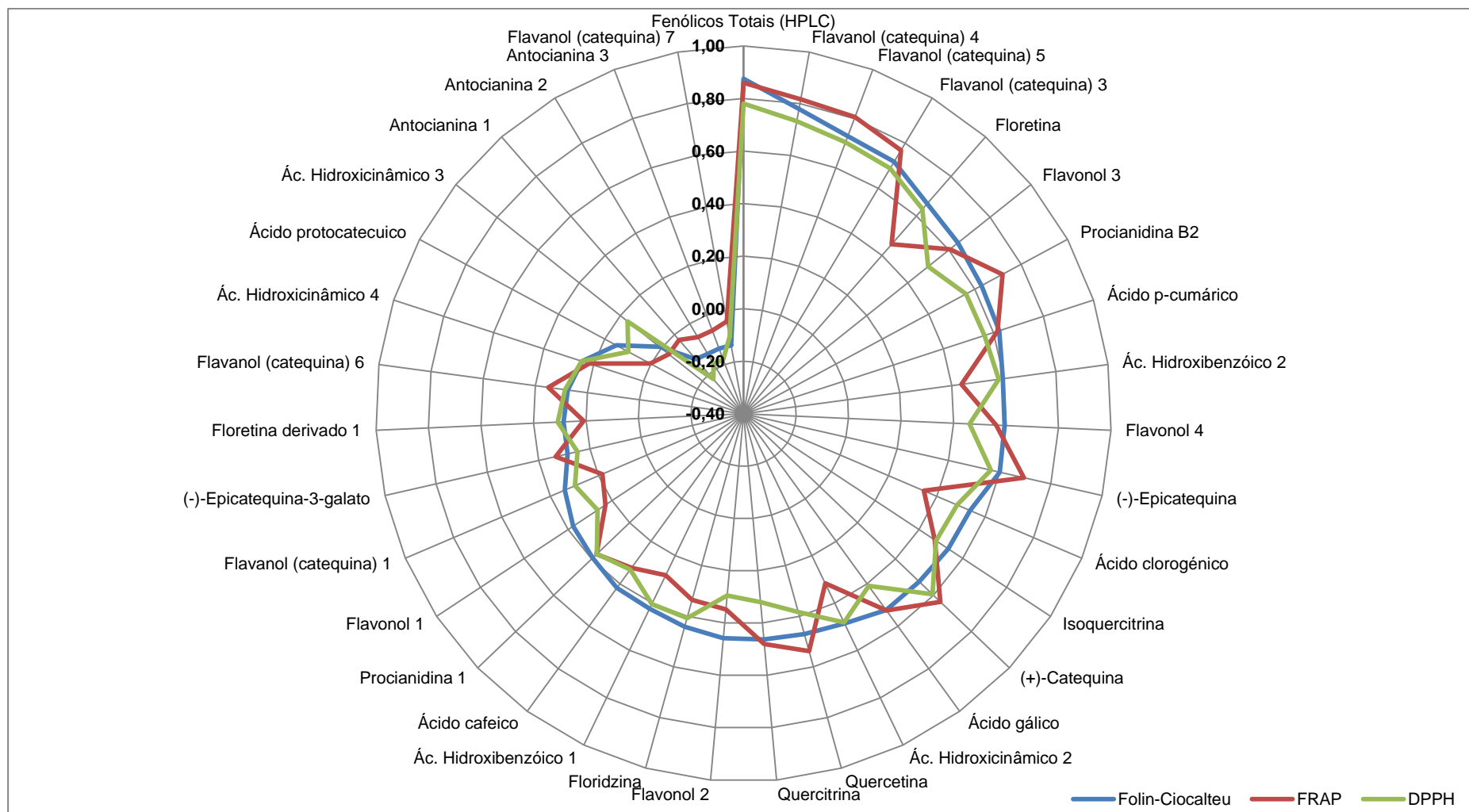


Figura 5.9. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC relativamente ao teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e à atividade antioxidante (FRAP e DPPH) na casca de 17 variedades de maçãs de Portugal.

Comparando os compostos que exibiram teores mais diferenciados nas diversas maçãs analisadas, isto é um maior número de níveis significativamente diferentes de concentração (comparações múltiplas de médias, teste de Tukey) (Capítulo 4) – nomeadamente: ácido clorogénico, procianidina B2, (–)-epicatequina, p-cumárico, floretina derivado 1, procianidina 1 e flavanol 4, na polpa, e ácido clorogénico, (–)-epicatequina, quercitrina, floridzina, floretina derivado 1, flavonol 2 e flavonol 3, na casca –, não foi encontrada uma relação que indicasse que estes compostos se mostravam, por esta razão, mais ou menos correlacionados com a atividade antioxidante.

Outros compostos demonstraram não estão associados nem ao teor de fenólicos totais, nem à atividade antioxidante, independentemente da técnica utilizada, nomeadamente: (–)-epicatequina-3-galato, ácido cafeico, isoquercitrina, ácido ferúlico, ácido hidroxicinâmico 4 e ácido protocatecuico, na polpa e ácido protocatecuico, ácido hidroxicinâmico 3 e antocianinas 1, 2 e 3, na casca (Figuras 5.8 e 5.9).

Os compostos que apresentam uma correlação fraca com a atividade antioxidante, ou estão presentes em baixa concentração na matriz – não influenciando significativamente esta atividade (caso da epicatequina-3-galato ou do ácido gálico) –, ou estão presentes em quantidade elevada mas constante (ácido clorogénico) – não refletindo, portanto, as diferenças entre variedades.

5.2.2.8.4. Variedades exóticas vs variedades tradicionais

Durante a análise de eventuais diferenças entre variedades exóticas e tradicionais constatou-se, mais uma vez, que a *Reineta Parda* mostrou ter uma maior afinidade com as variedades tradicionais do que com as exóticas. Assim, decidiu-se por integrar esta variedade no grupo das variedades tradicionais, uma vez que se constatou que ao integrá-la no conjunto das exóticas os coeficientes de correlação apurados pelo grupo seriam alterados, quase sempre com expressão. Para facilitar a referência ao longo do texto remanescente do capítulo atual e evitar a repetição, optou-se por abreviar a menção ao grupo das variedades exóticas (ao qual se excluiu a *Reineta Parda*), e ao conjunto das cultivares tradicionais (ao qual se incluiu a referida variedade) para, apenas, variedades exóticas e variedades tradicionais, respetivamente.

Esta separação mostrou que as diversas classes de fenólicos se correlacionam de forma mais equilibrada com o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) nas variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) (Tabelas 5.4 e 5.5). Por outro lado, constatou-se que na polpa os flavanóis, as dihidrochalconas e os ácidos hidroxibenzóicos estão mais correlacionados com o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu) nas variedades tradicionais do que nas exóticas. Os

flavonóis e os ácidos hidroxicinâmicos mostraram o mesmo padrão, tendo-se apurado que estão inversamente correlacionados com o teor de fenólicos nas variedades exóticas.

No que concerne à fração casca, as conclusões retiradas foram ligeiramente diferentes. As classes flavanóis, dihidrochalconas e antocianinas das variedades exóticas mostraram estar mais correlacionados com o teor de fenólicos do que nas variedades tradicionais. Já os flavonóis, ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos evidenciaram maior relação por parte das variedades tradicionais. Estas duas últimas classes mostraram estar inversamente correlacionadas com o teor de fenólicos exibido pelas variedades tradicionais (sem *Reineta Parda*).

Tabela 5.4. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na polpa de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.

Variedades	Folin-Ciocalteu		FRAP		DPPH	
	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP
Flavanóis	0,77**	0,69*	0,62**	0,75*	0,20	-0,66*
Dihidrochalconas	0,71**	0,48	0,32	0,43	0,33	-0,19
Ác. Hidroxibenzóicos	0,69**	-0,02	0,50*	0,16	0,53**	-0,35
Flavonóis	0,38	-0,50	0,62**	-0,52	0,49*	0,77**
Ác. Hidroxicinâmicos	-0,13	-0,78**	-0,32	-0,67*	-0,13	0,52

TV – todas as variedades; T + ReP – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - ReP – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$.

Tabela 5.5. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na casca de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.

Variedades	Folin-Ciocalteu		FRAP		DPPH	
	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP
Flavanóis	0,69**	0,73*	0,81**	0,69*	0,72**	0,66*
Dihidrochalconas	0,37	0,55	0,26	0,49	0,37	0,38
Antocianinas	0,14	0,27	0,13	0,44	0,07	0,28
Flavonóis	0,58**	0,18	0,55**	0,10	0,45*	0,24
Ác. Hidroxibenzóicos	0,58**	-0,12	0,40	-0,20	0,55**	0,00
Ác. Hidroxicinâmicos	0,51*	-0,52	0,34	-0,68*	0,50*	-0,59

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$.

No que respeita à atividade antioxidante, os coeficientes de correlação mostraram associações muito distintas entre as diversas classes de fenólicos e os valores apurados relativamente às duas técnicas utilizadas na determinação da atividade antioxidante (FRAP e DPPH), tanto na polpa, como na casca (Tabelas 5.4 e 5.5). Essa diferença ficou mais claramente espelhada na polpa. Se por um lado em relação à atividade antirradicalar (DPPH) as classes de flavanóis, dihidrochalconas e ácidos hidroxibenzóicos das variedades exóticas revelaram uma associação inversa com o teor de fenólicos, e positiva relativamente à atividade redutora (FRAP), no caso dos flavonóis e dos ácidos hidroxicinâmicos observou-se precisamente o contrário. Isto é, a relação revelou um caráter inverso no FRAP e positivo no DPPH.

Tornou-se, pois, necessário fazer uma análise diferenciada, relativamente às duas metodologias usadas na determinação da atividade antioxidante e às frações polpa e casca. No caso da atividade redutora (FRAP) na polpa, os flavanóis e as dihidrochalconas foram as classes que exibiram uma correlação mais forte para com o teor de fenólicos totais, tanto nas variedades tradicionais como nas exóticas, embora seja importante ressaltar que neste último grupo as dihidrochalconas mostraram uma relação inversa, embora não significativa estatisticamente ($p > 0,05$) (Tabelas 5.4). Na relação com a atividade antirradicalar (DPPH) da polpa, as classes ácidos hidroxibenzóicos e flavonóis foram aquelas que mostraram estar mais correlacionadas com o teor de fenólicos evidenciado pelo grupo das variedades tradicionais. Já nas variedades exóticas o resultado foi um pouco diferente, demonstrando que são sobretudo as classes flavonóis e flavanóis que estão mais relacionadas com o teor de fenólicos, embora no caso particular dos flavanóis a relação apurada se mostre com caráter inverso.

Na casca, as correlações evidenciadas entre variedades exóticas e tradicionais foram mais idênticas, muito embora com algumas exceções (Tabelas 5.5). Relativamente à atividade redutora (FRAP), os flavanóis, os flavonóis e os ácidos hidroxibenzóicos mostraram ser as classes mais correlacionadas nas variedades tradicionais, enquanto nas variedades exóticas foram as classes flavanóis e ácidos hidroxicinâmicos, este último demonstrando relação inversa forte e significativa ($p < 0,05$). A relação com a atividade antirradicalar (DPPH) mostrou que são os ácidos hidroxibenzóicos e os flavonóis que maior correlação evidenciam nas variedades tradicionais, enquanto nas variedades exóticas esse destaque é assumido pelas classes flavonóis e flavanóis, esta última demonstrando uma associação inversa forte e significativa ($p < 0,05$).

Foram também analisadas as correlações entre os vários compostos identificados por HPLC, relativamente ao teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e atividade antioxidante (FRAP e DPPH), tendo em consideração a separação efetuada, pelas razões já aludidas, entre variedades tradicionais (ao qual se incluiu a *Reineta Parda*) e exóticas (ao qual se exclui a *Reineta Parda*). O resultado desta correlação diferenciada mostrou que os vários compostos

fenólicos evidenciam correlações diversas dependendo do grupo de variedades de maçãs e da fração do fruto a que se relaciona (Figuras 5.10 a 5.15).

Considerando a fração polpa, constatou-se que um grande número de compostos fenólicos identificados nas variedades exóticas encontram-se forte e significativamente correlacionados com o teor de fenólicos determinado pelo método Folin-Ciocalteu, a um nível mais elevado do que aquele apurado nas cultivares tradicionais, nomeadamente: procianidina 1 ($r = 0,62$) e ácido clorogénico ($r = 0,68$), significativos a $p < 0,05$, e flavanóis 2 ($r = 0,89$), 3 ($r = 0,91$), 4 ($r = 0,94$) e 5 ($r = 0,95$), procianidina B2 ($r = 0,87$), (-)-epicatequina ($r = 0,86$), ácido p-cumárico ($r = 0,80$), flavonol 4 ($r = 0,94$), floridzina ($r = 0,80$) e floretina ($r = 0,79$), significativos a $p < 0,05$ (Figuras 5.10). Por outro lado, os compostos que evidenciaram uma correlação mais elevada, isto é, forte e significativa ($p < 0,01$), nas variedades tradicionais foram os seguintes: ácido gálico ($r = 0,71$), flavanóis 2 ($r = 0,83$), 3 ($r = 0,80$), 4 ($r = 0,72$), 5 ($r = 0,83$) e 6 ($r = 0,63$), procianidina B2 ($r = 0,80$), derivado de floretina 1 ($r = 0,65$) e quercitrina ($r = 0,62$) e floridzina ($r = 0,66$).

Contudo, foram em menor número os compostos que exibiram correlações fortes e significativas em relação à atividade antioxidante, sobretudo relativamente à atividade redutora (FRAP), nomeadamente: ácido gálico ($r = 0,61$), flavanol 2 ($r = 0,79$), 3 ($r = 0,79$), 4 ($r = 0,82$) e 5 ($r = 0,84$), procianidina B2 ($r = 0,78$) e quercitrina ($r = 0,68$) (todas significativas a $p < 0,01$), nas variedades tradicionais; e flavanóis 2 ($r = 0,78$) e 5 ($r = 0,75$) (ambas significativas a $p < 0,01$), flavanóis 3 ($r = 0,61$) e 4 ($r = 0,63$), (-)-epicatequina ($r = 0,61$), flavonol 4 ($r = 0,63$) e floridzina ($r = 0,67$) (todas significativas a $p < 0,05$), nas variedades exóticas (Figuras 5.11). Há ainda a ressaltar a correlação inversa, forte e significativa ($p < 0,05$) exibida pelo ácido protocatecuico ($r = -0,64$), nas variedades exóticas.

Já em relação à atividade antirradicalar (DPPH) os compostos que evidenciaram correlações mais fortes e significativas nas variedades tradicionais foram os seguintes: (-)-catequina-3-galato ($r = 0,78$), quercitrina ($r = 0,64$), e floretina ($r = 0,61$) (todas significativas a $p < 0,01$), nas variedades tradicionais; e ácido cafeico ($r = 0,63$), ácido p-cumárico ($r = 0,65$), derivado de floretina 1 ($r = 0,64$), e floridzina ($r = 0,63$) (todas significativas a $p < 0,05$), nas variedades exóticas (Figura 5.12).

Apesar do estudo revelar que em termos globais a polpa das variedades exóticas exibe um maior número de compostos com correlações fortes relativamente à atividade antioxidante, o teor de fenólicos totais determinado por HPLC mostra uma correlação mais elevada e significativa ($p < 0,01$) relativamente à atividade redutora (FRAP) nas variedades tradicionais ($r = 0,76$), do que nas exóticas ($r = 0,54$; $p > 0,05$). A atividade redutora das cultivares tradicionais parece beneficiar de uma associação positiva e mais equilibrada dos vários compostos que ocorrem na polpa. Para além disso, também não é alheio o facto de alguns compostos,

designadamente o ácido protocatecuico, a quercitrina e o ácido hidroxicinâmico 4, terem demonstrado contribuir inversamente para a atividade redutora. No entanto, na análise a respeito da correlação entre o teor de fenólicos totais por HPLC e a atividade antirradicalar (DPPH) o resultado inverteu-se, muito embora se tenha revelado mais baixo e desprovido de significância estatística ($p > 0,05$) (exóticas: $r = 0,41$; tradicionais: $0,33$).

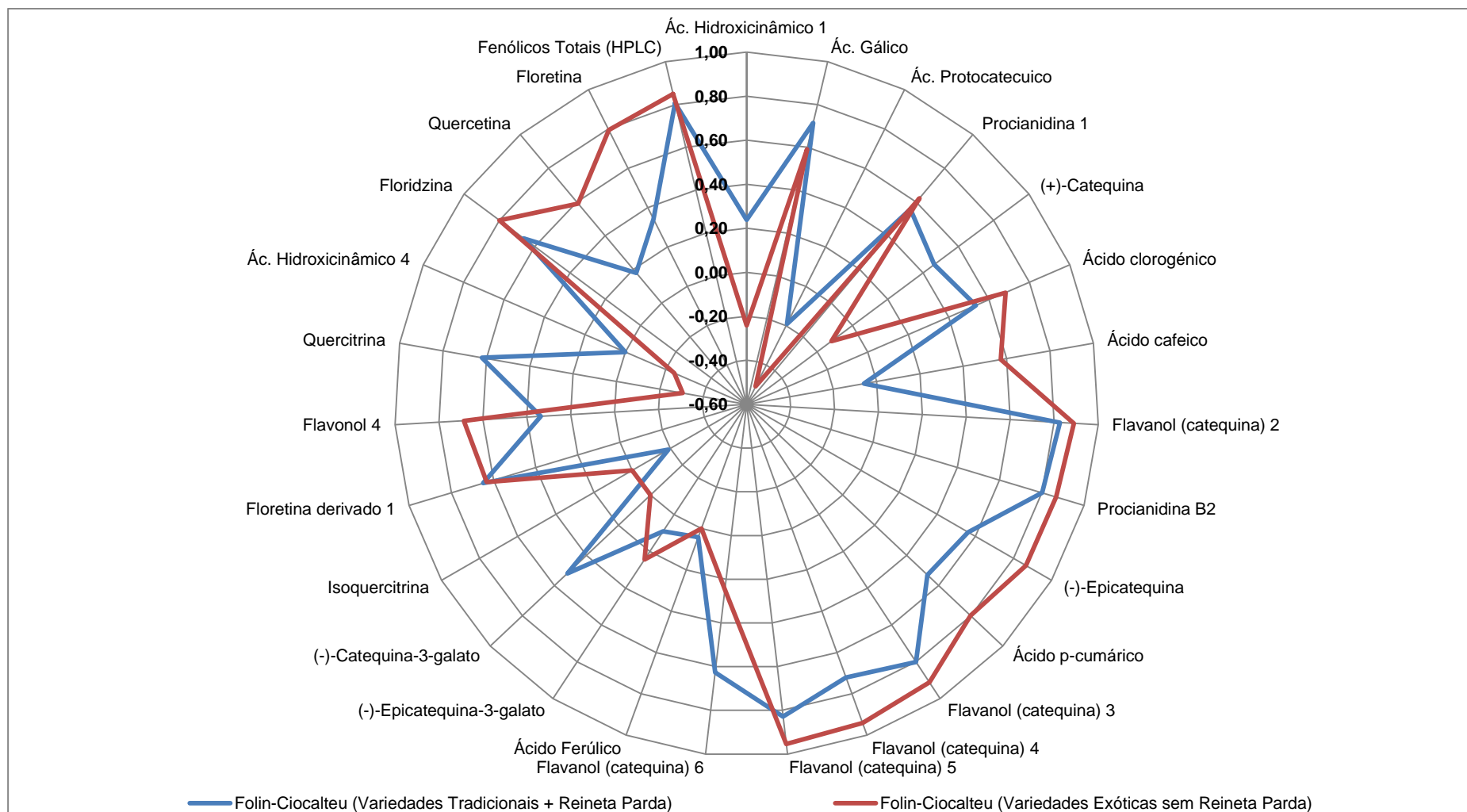


Figura 5.10. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

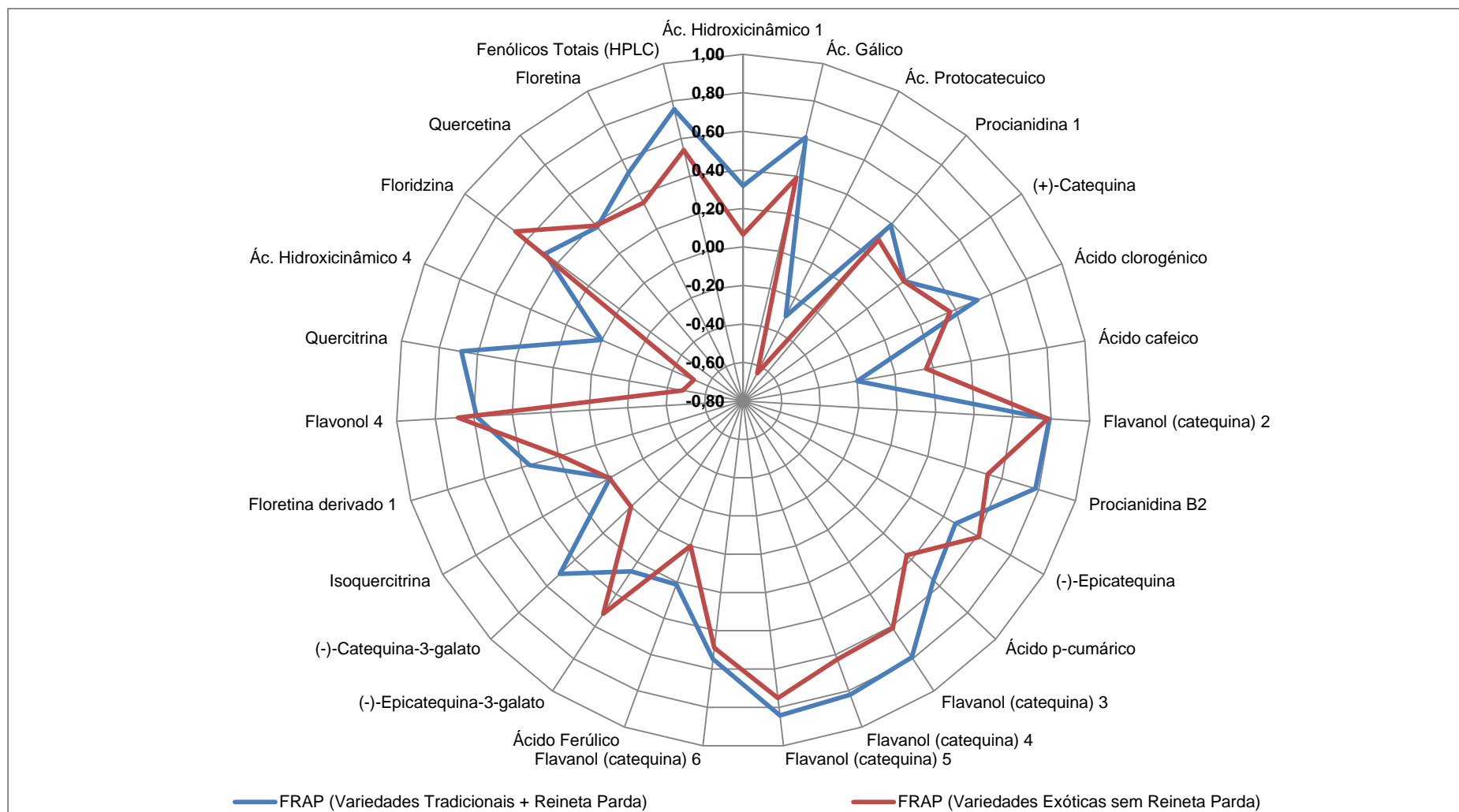


Figura 5.11. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade redutora (FRAP) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

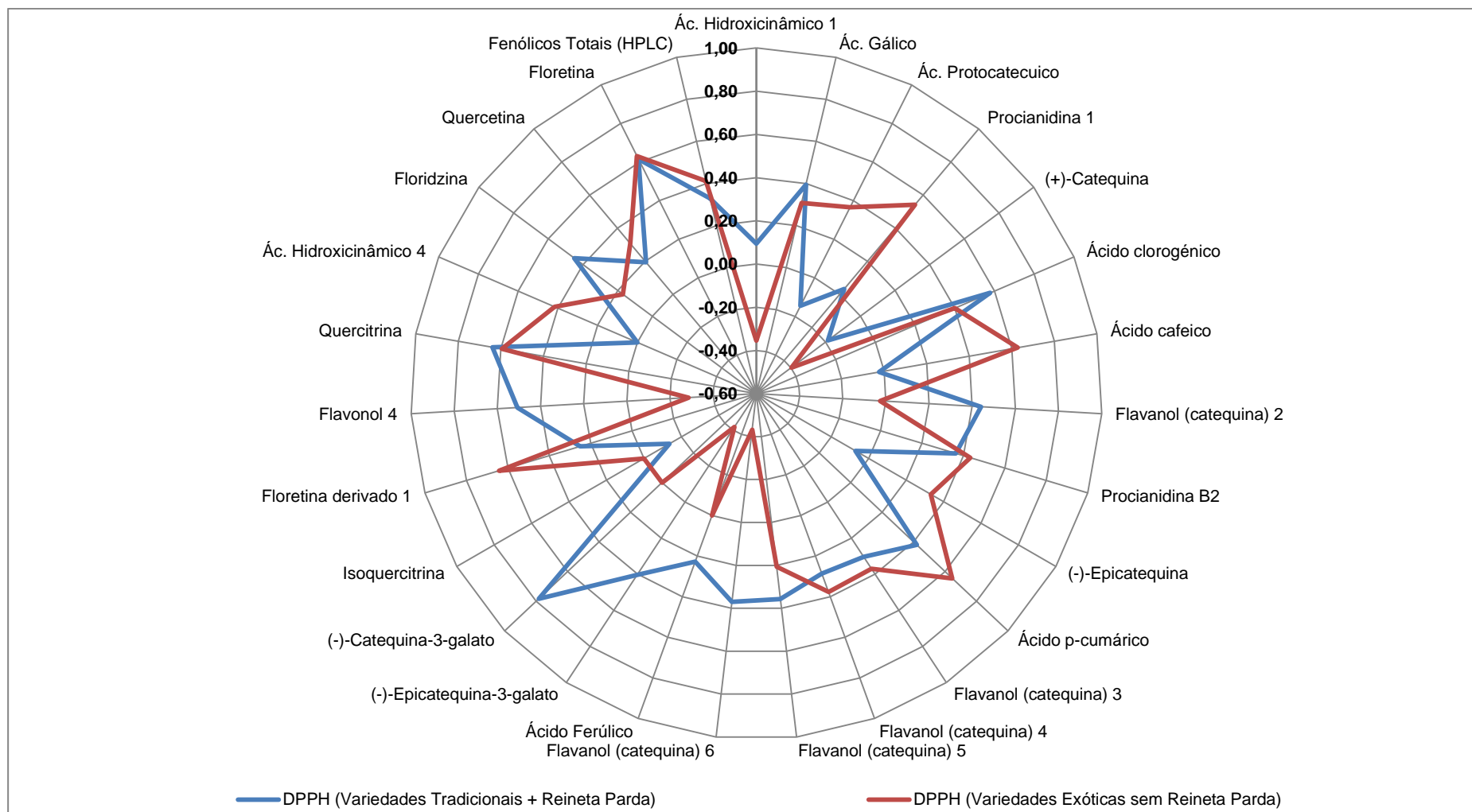


Figura 5.12. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade antirradicalar (DPPH) na polpa de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

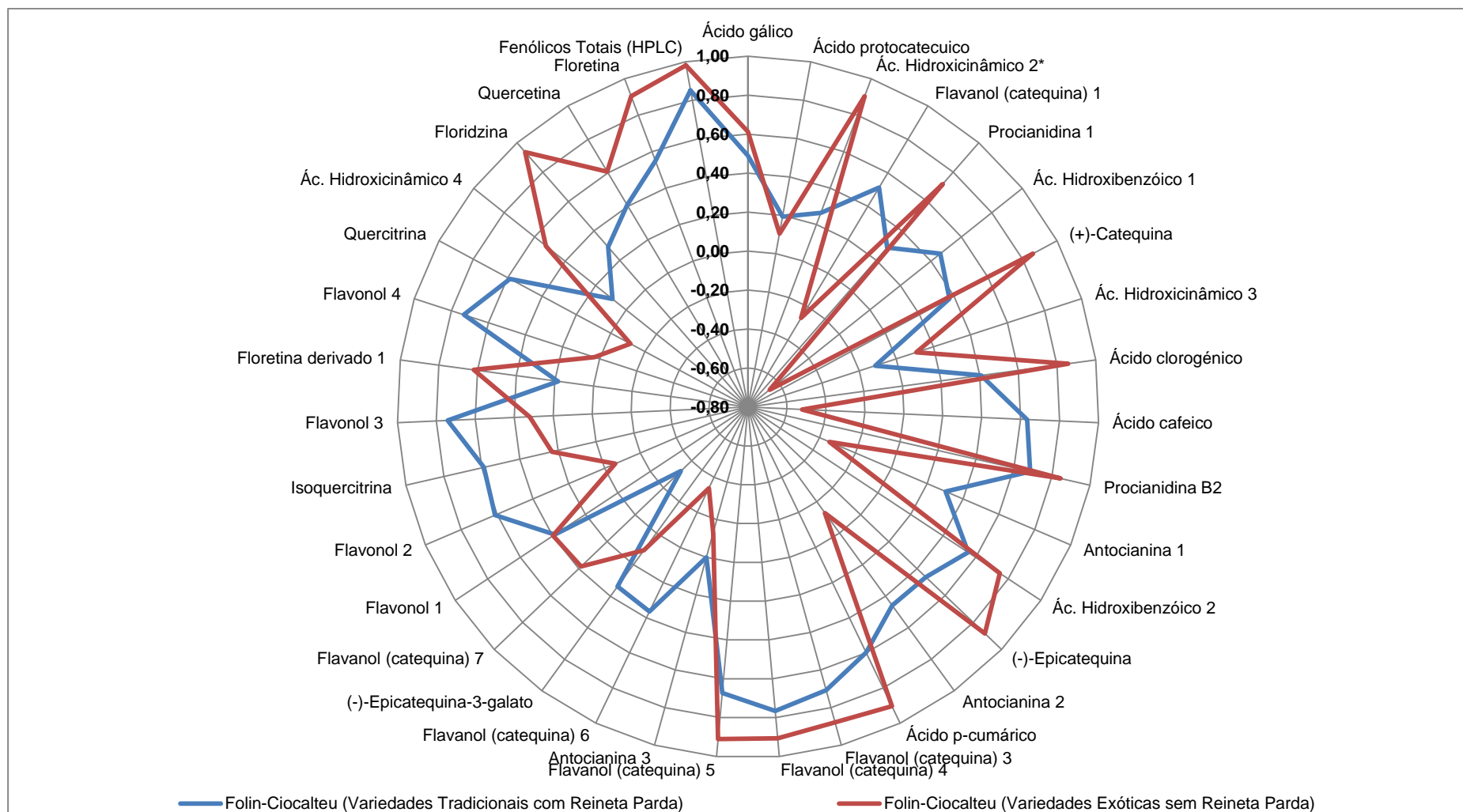


Figura 5.13. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

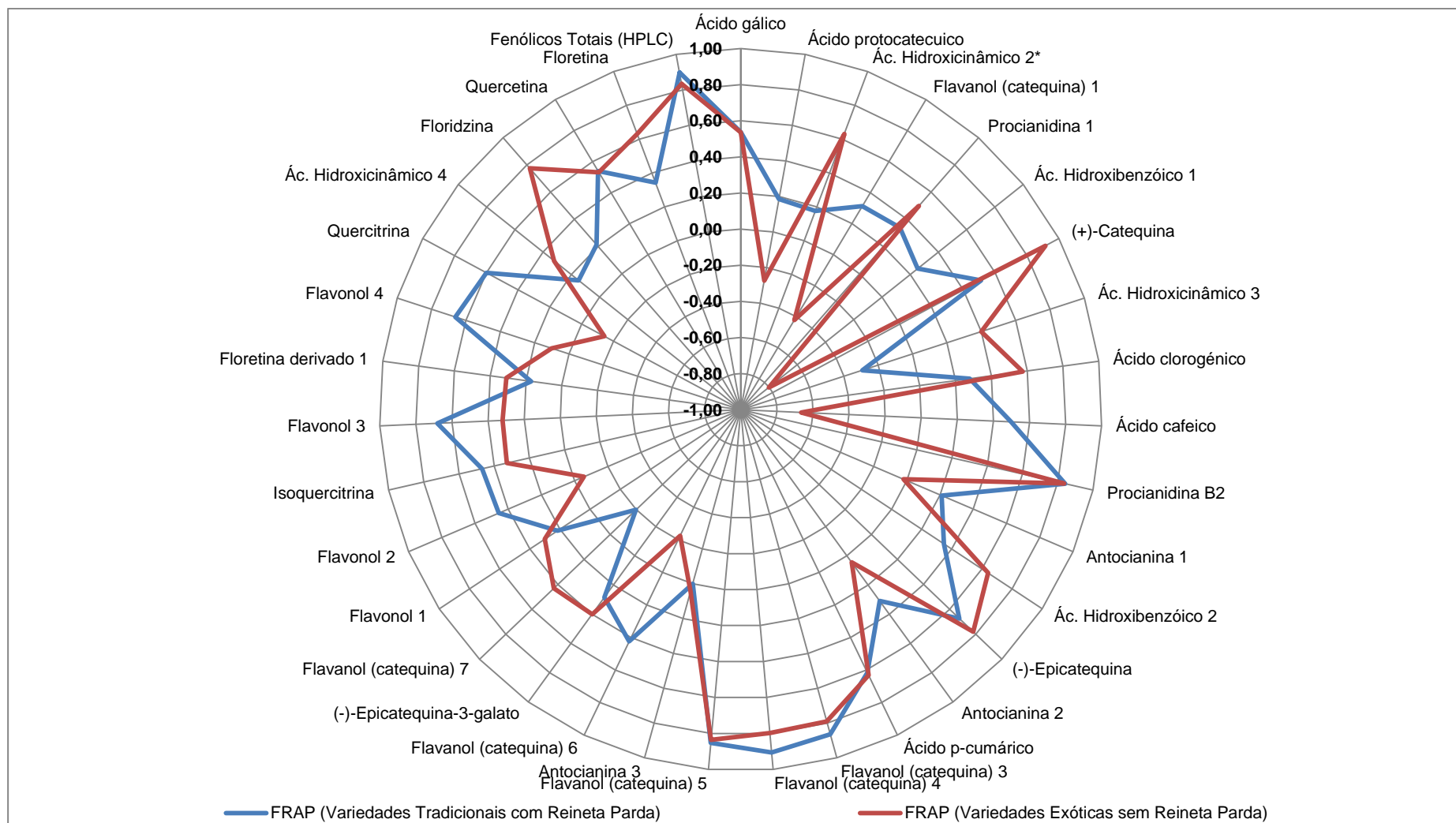


Figura 5.14. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade redutora (FRAP) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

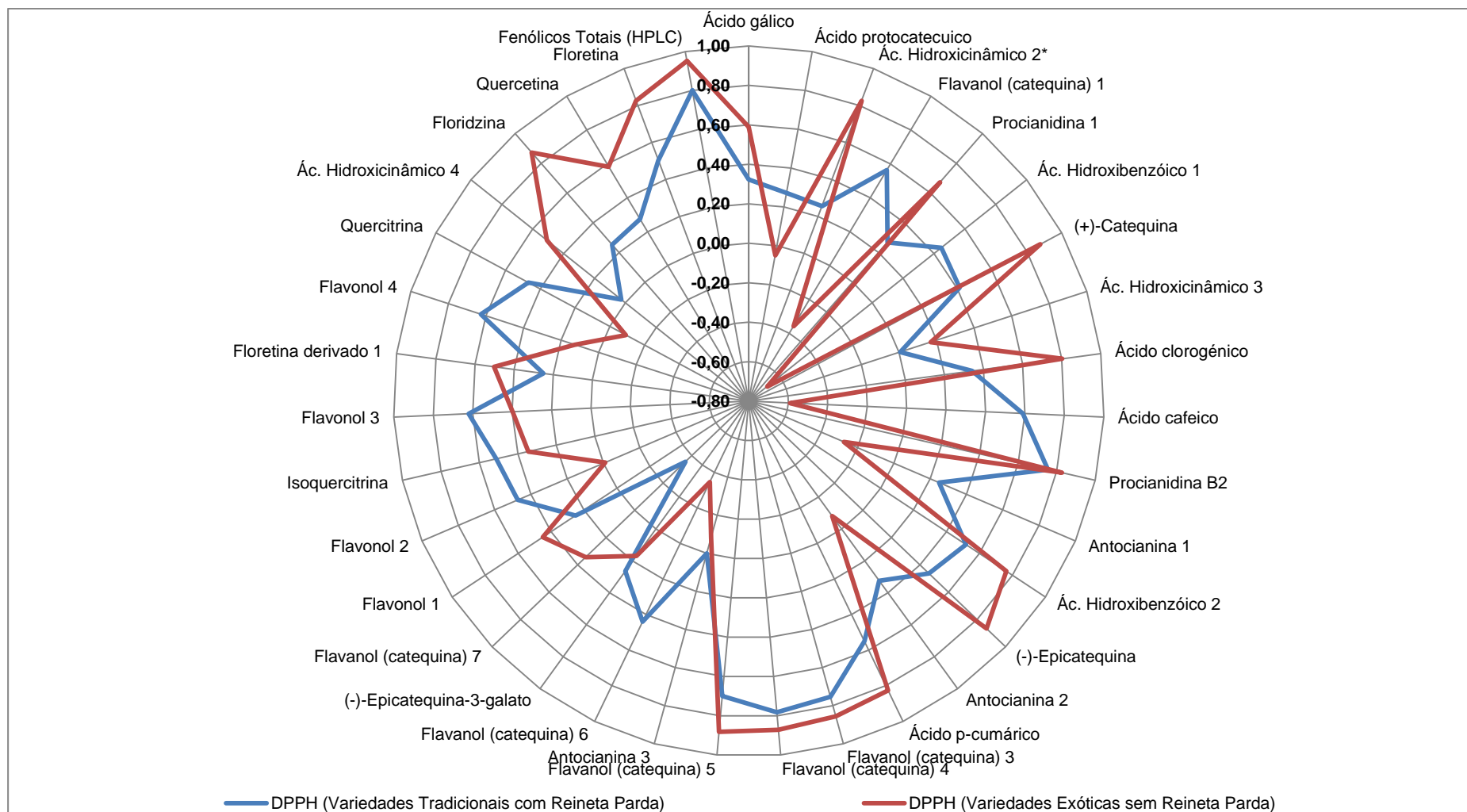


Figura 5.15. Correlação de Pearson entre os compostos identificados por HPLC e a atividade antirradicalar (DPPH) na casca de variedades tradicionais (com a inclusão da *Reineta Parda*) e de variedades exóticas de maçãs de Portugal.

Na fração casca foram também vários os compostos que evidenciaram associações fortes ou muito fortes, e com significância estatística, com o teor de fenólicos determinado pelo método Folin-Ciocalteu (Figura 5.13). Tal como verificado na polpa, as variedades exóticas evidenciaram um maior número de compostos fortemente correlacionados com o teor de fenólicos (Folin-Ciocalteu), dos quais se destacam os seguintes compostos por terem revelado associações muito fortes e significativas ($p < 0,01$): floridzina ($r = 0,94$), flavanóis 5 ($r = 0,91$), e 4 ($r = 0,91$), ácido hidroxicinâmico 2 ($r = 0,90$), ácido p-cumárico ($r = 0,90$) e floretina ($r = 0,90$). Importa ainda salientar o facto do ter sido observado uma correlação inversa, caracterizada por ser forte e significativa estatisticamente ($p < 0,05$), relativamente ao composto ácido hidroxibenzóico 1 ($r = -0,66$). Por outro lado, nas variedades tradicionais não foram observadas quaisquer relações que pudessem ser classificadas como muito fortes. Contudo, vários compostos evidenciaram associações positivas e fortes, com relevância estatística ($p < 0,01$), nomeadamente: ácido cafeico ($r = 0,63$), procianidina B2 ($r = 0,68$), flavanóis 3 ($r = 0,71$), 4 ($r = 0,77$), e 5 ($r = 0,67$), flavonóis 2 ($r = 0,61$), 3 ($r = 0,74$) e 4 ($r = 0,73$), e p-cumárico ($r = 0,60$).

Nas correlações estabelecidas entre os diversos compostos fenólicos e a atividade redutora (FRAP), apurou-se que apesar do número de compostos fortemente associados ter diminuído nas variedades exóticas, tendo por base a comparação efetuada a partir dos resultados obtidos para as correlações referidas no parágrafo anterior e estabelecidas para o método Folin-Ciocalteu, nas variedades tradicionais observou-se precisamente o inverso (Figuras 5.14). Isto deve-se sobretudo ao reforço dos coeficientes de correlação de alguns compostos das variedades tradicionais, que também demonstraram correlações fortes e significativas relativamente ao teor de fenólicos determinado por Folin-Ciocalteu, o que denota que estes compostos estão, de facto, relacionados com a atividade redutora. De entre estes compostos, importa destacar o flavanol 4 ($r = 0,90$) que demonstrou uma associação muito forte e significativa ($p < 0,01$), enquanto diversos outros evidenciaram correlações igualmente significativas ($p < 0,01$), mas de intensidade inferior, muito embora classificadas como associações fortes, nomeadamente: flavanóis 3 ($r = 0,86$) e 5 ($r = 0,85$), procianidina B2 ($r = 0,84$), flavonóis 3 ($r = 0,68$) e 4 ($r = 0,66$), (-)-epicatequina ($r = 0,67$), ácido p-cumárico ($r = 0,62$) e quercitrina ($r = 0,60$). Nas variedades exóticas destaca-se a associação muito forte da (+)-catequina ($r = 0,92$; $p < 0,01$), mas também de outros compostos que demonstraram estar forte e significativamente associados ($p < 0,01$), nomeadamente: procianidina B2 ($r = 0,84$), flavanóis 5 ($r = 0,84$), 4 ($r = 0,80$) e 3 ($r = 0,79$), (-)-epicatequina ($r = 0,78$) e floridzina ($r = 0,78$). Os compostos ácido hidroxibenzóico 1 ($r = -0,80$; $p < 0,01$) e ácido cafeico ($r = -0,66$; $p < 0,05$) revelaram estar inversamente associados à atividade redutora (FRAP) demonstrada pela casca das variedades exóticas.

No que concerne à atividade antirradicalar (DPPH) não se observaram correlações que pudessem ser classificadas como muito fortes, nem em relação às variedades tradicionais, nem relativamente às variedades exóticas (Figuras 5.15). Porém, diversos compostos

demonstraram estar forte e significativamente ($p < 0,01$) relacionados, nomeadamente: flavanóis 4 ($r = 0,80$), 3 ($r = 0,75$) e 2 ($r = 0,70$), procianidina B2 ($r = 0,76$), flavonol 4 ($r = 0,63$) e flavonol 3 ($r = 0,62$), nas variedades tradicionais e (+)-catequina ($r = 0,88$), flavanóis 5 ($r = 0,88$), 4 ($r = 0,87$) e 3 ($r = 0,86$), (–)-epicatequina ($r = 0,87$), flavanóis 4 ($r = 0,87$) e 3 ($r = 0,86$), floridzina ($r = 0,87$), ácido hidoxicinâmico 2 ($r = 0,83$), procianidina B2 ($r = 0,83$), ácido p-cumárico ($r = 0,83$), floretina ($r = 0,83$), ácido clorogénico ($r = 0,80$) e ácido hidroxibenzóico 2 ($r = 0,76$), nas variedades exóticas. A procianidina 1 também exibiu uma correlação forte e significativa nas variedades exóticas, mas apenas ao nível de $p < 0,05$ ($r = 0,67$), tal como ocorreu em relação ao ácido hidroxibenzóico 1, muito embora neste caso a associação se tenha revelado inversa relativamente à atividade antirradicalar ($r = -0,68$).

Finalmente importa referir que alguns dos compostos, como a floretina, cuja concentração foi vestigial (abaixo do limite de quantificação), apresentaram ainda assim uma correlação positiva com a atividade antioxidante das maçãs, sobretudo porque não foram detetados nas maçãs que revelaram menor atividade antioxidante.

Para além dos compostos salientados, muitos outros concorrem para a atividade antioxidante global das maçãs (Anexo III). Todavia, apesar de cada composto contribuir na sua medida, é o seu conjunto, e porventura os efeitos sinérgicos existentes entre eles, que tornam a maçã num fruto com propriedades nutracêuticas de relevo.

5.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bellion, P., Digles, J., Will, F., Dietrich, H., Baum, M., Eisenbrand, G., & Janzowski, C. (2010). Polyphenolic apple extracts: effects of raw material and production method on antioxidant effectiveness and reduction of DNA damage in Caco-2 cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58:6636–6642, doi:10.1021/jf904150x.
2. Callegari-Jacques, S. (2003). *Bioestatística: princípios e aplicações*. Artemed, Porto Alegre, Brasil, ISBN: 8536300929, 255 pp.
3. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
4. Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Savatović, S., Mandić, A., & Tumbas, V. (2008). Assessment of polyphenolic content and *in vitro* antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347, doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.046.
5. Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004b). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:4684-4689.
6. D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A., (2007). "Limoncella" Apple, an Italian Apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104:1333-1337, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.073.
7. Dias, M.G., Camões, M., & Oliveira, L. (2009). Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113:808-815, doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.002.
8. Drogoudi, P., Michailidis, Z., & Pantelidis, G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 115:149-153, doi: 10.1016/j.scienta.2007.08.010.
9. García, Y. D., Valles, B. S., & Lobo, A. P. (2009). Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry* 117:731–738, doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.049.
10. Gaziano, J.M., Manson, J.E., Branch, L.G, Colditz, G.A., Willett, W.C., & Buring, J.E. (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of Epidemiology*, 5: 255–260.
11. Hagen, S.F., Borge, G.I., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., & Solhaug, K. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit

(*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation Postharvest Biology and Technology, 45:1–10, doi:10.1016/j.postharvbio.2007.02.002.

12. Halvorsen, B., Holte, K., Myhrstad, M., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S., Wold, A., Haffner, K., Baugerød, Andersen, L., Moskaug, J., Jacobs, D., & Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*, 132:461-471.
13. Henríquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabez, L., Simpson R. & Speisky, H. (2010a). Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70(4):523-536.
14. Huber, G.M., & Rupasinghe, H.P.V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of Food Science*, 74(9):C693-C700, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01356.x.
15. Huber, G.M., & Rupasinghe, H.P.V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of Food Science*, 74(9):C693-C700, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01356.x.
16. Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:6301-6306.
17. Joshipura, K., H., F., Manson, J., Stampfer, M., Rimm, E., Speizer, F., Colditz, G., Ascherio, A., Rosner, B., Spiegelman, D., & Willet, W. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of Internal Medicine*, 134(12): 1106-1114.
18. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., & DeEll, J. (2007b). Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(1):61-66, ISSN: 1459-0255.
19. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.
20. Kim, Y., Giraud, D., & Driskell, J. (2007). Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20:458-465, doi: 10.1016/j.jfca.2007.02.001.
21. Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Heliövaara, M., Teppo, L., Pukkala, E., & Aromaa, A. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of epidemiology*, 146:223-230.

22. Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., Číž, M., Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Haruenkit, R., & Trakhtenberg, S. (2003). Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 5780-5785, doi: 10.1021/jf030137j.
23. Maiani, G., Castón, M.J., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I.G., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer-Miebach, E., Behnlian, D., & Schlemmer, U. (2009). Review: Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53:S194-S218, doi: 10.1002/mnfr.200800053.
24. Malin, A., Qi, D., S., X., Gao, Y., Friedmann, J., Jin, F., & Zheng, W. (2003). Intake of fruits, vegetables and selected micronutrients in relation to the risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*, 105(3):413-418.
25. Manzoor, M., Anwar, F., Saari, N., Ashraf, M. (2012). Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars from Pakistan. *Molecules*, 17:390-107, doi: 10.3390/molecules17010390.
26. Marchand, L., Murphy, S., Hankin, J., Wilkens, L., & Kolonel, L. (2000). Intake of flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:154-160.
27. Soares, M., Werter, L., Gonzaga, L., Lima, A., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2008). Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(3):727-732, ISSN 0101-2061.
28. Sun, J., Chu, Y., Wu, X., & Liu, R. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:7449-7454.
29. Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., & Khanizadeh, S. (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53:4989-4995, doi: 10.1021/jf048289h.
30. Vanzani, P., Rossetto, M., Rigo, A., Vrhovsek, U., Mattivi, F., D'Amato, E., & Scarpa, M. (2005). Major phytochemicals in apple cultivars: Contribution to peroxyl radical trapping efficiency. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:3377-3382.
31. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Amboni, R., Denardi F., & Fett, R. (2009). Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 122:421-425, doi: 10.1016/j.scienta.2009.06.012.

32. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Pietro, P., Nunes, E., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Scientia Horticulturae*, 128:261-266, doi: 10.1016/j.scienta.2011.01.032.
33. W.C.R.F./A.I.C.R. (2007). Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. London. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research.
34. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:6520-6530.



CAPÍTULO 6

Conclusões Finais

- Conclusões finais
- Sugestões para trabalhos futuros

6.1. CONCLUSÕES FINAIS

A maçã é um fruto muito apreciado e é presença constante na lista de compras dos portugueses. Contudo, o consumidor não tem acesso a informações nutricionais que lhe permitam no momento da compra adquirir as variedades que maior potencial nutracêutico possuem. A decisão da compra é, portanto, limitada à oferta existente, ao preço e à familiaridade já existente em relação às características sensoriais das variedades disponíveis. O consumidor vê-se indiretamente obrigado a adquirir as variedades que o próprio mercado selecionou previamente, por questões que estão muito mais relacionadas com a produtividade e a rentabilidade do que com as propriedades biológicas do fruto.

O trabalho aqui apresentado mostra que Portugal possui diversas variedades tradicionais que, apesar de não fazerem parte do circuito da grande distribuição (nomeadamente *Maçã Branca*, *Camoesa da Azoia*, *Pardo Lindo* e *Porta da Loja*) ou serem comercializadas em pequena quantidade (e.g. *Casa Nova de Alcobça*, *Maçã Cunha* e *Bravo de Esmolfe*), possuem teores mais elevados de fenólicos e evidenciam uma atividade antioxidante mais relevante do que as variedades exóticas mais comercializadas (*Starking*, *Jonagold*, *Golden Delicious*, *Fuji* e *Royal Gala*). Contudo, a maçã *Reineta Parda*, uma cultivar exótica, mostrou mais semelhanças com as variedades tradicionais do que com as restantes variedades exóticas estudadas. Estes dados estão de acordo com trabalhos anteriores que indicam que as variedades antigas, nomeadamente a *Reineta*, possuem uma concentração de polifenóis mais elevada – em particular devido ao elevado teor de flavanóis (catequinas e procianidinas) – do que as variedades de maçãs mais recentes, como por exemplo a *Royal Gala* e a *Fuji* (Vrhovsek *et al.*, 2004; Wojdyło *et al.*, 2008). É provável que se continue a verificar uma diminuição gradual da quantidade de polifenóis em maçãs, à medida que novos desenvolvimentos vão distanciando cada vez mais as novas variedades daquelas que lhes deram origem (Vrhovsek *et al.*, 2004).

Os dados aqui apresentados mostram que as maçãs tradicionais possuem um teor médio de fenólicos mais elevado do que o das variedades exóticas, independentemente do método utilizado para a sua determinação (Folin-Ciocalteu ou HPLC-DAD). Os resultados mostram ainda que o teor de fenólicos está muito dependente da variedade de maçã e da fração do fruto estudada. As variedades *Pardo Lindo*, *Maçã Branca*, *Reineta Parda*, *Bravo de Esmolfe*, *Porta da Loja*, *Camoesa da Azoia* e *Casa Nova de Alcobça* exibiram valores muito elevados de fenólicos, sobretudo na casca, onde os valores apurados chegaram a ser até 4 vezes superiores aos da polpa.

Foi encontrada uma correlação positiva entre o teor de fenólicos e atividade antioxidante, sobretudo em relação à atividade redutora férrica (FRAP). Por este motivo, as variedades tradicionais demonstraram, também, uma atividade antioxidante mais intensa do que as cultivares exóticas.

Os flavanóis revelaram ser os componentes da maçã que mais contribuem para o teor de fenólicos e para a sua atividade antioxidante demonstrada pelas maçãs – seguidos dos ácidos hidroxibenzóicos, dos flavonóis, das dihidrochalconas, dos ácidos hidroxicinâmicos e das antocianinas –, em especial devido ao contributo da (–)-epicatequina e da procianidina B2, mas também da (+)-catequina e de uma série de outros flavanóis que não puderam ser identificados, e que se encontram forte e significativamente correlacionados com a atividade antioxidante. Quanto ao ácido clorogénico e à floridzina, compostos que ocorrem também em grande quantidade em maçãs, demonstraram uma correlação positiva mas moderada.

Foram ainda encontradas correlações positivas, embora fracas, relativamente ao teor de carotenóides, de açúcares e de acidez titulável. As fibras, por seu lado, mostraram estar inversamente associadas à atividade antioxidante, enquanto no que respeita aos minerais, apenas o zinco demonstrou estar correlacionado.

Os dados aqui apresentados mostram que algumas variedades tradicionais se destacam sobretudo por possuírem elevados teores de fenólicos que, por sua vez, se traduz numa intensa atividade antioxidante. Variedades como o *Pardo Lindo*, a *Maçã Branca*, a *Camoesa da Azoia* e a *Porta da Loja* merecem ser ativamente promovidas, e a sua produção estimulada e apoiada, tal como tem acontecido com as variedades *Bravo de Esmolfe*, *Casa Nova de Alcobça*, *Riscadinha de Palmela* e, mais recentemente, a *Camoesa da Azoia*, no sentido de não se deixar perder, de forma irreparável, variedades que espelham a grande riqueza e a diversidade frutícola de Portugal.

Espera-se, assim, que o trabalho aqui apresentado possa constituir uma ferramenta importante neste desígnio e possa ser usado pelos núcleos Regionais de Agricultura, ou por outras instituições e organizações locais, na promoção das variedades tradicionais portuguesas.

6.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A atividade nutracêutica das maçãs encontra-se essencialmente relacionada com os polifenóis, compostos que possuem um grande potencial para serem usados em diversas aplicações, nomeadamente nas indústrias de cosméticos, alimentar e farmacêutica, particularmente devido às suas propriedades antioxidantes (Peschel *et al.*, 2006; Babbar *et al.*, 2011; Makris *et al.*, 2007; García-Alonso *et al.*, 2004; Frighetto *et al.*, 2008; Shoji *et al.*, 2004).

Os testes preliminares que conduziram ao método de extração utilizado neste trabalho, mostraram que os resíduos de maçã possuem ainda um elevado teor de fenólicos. Neste sentido, a extração de polifenóis a partir do bagaço de maçã, um subproduto do processamento do fruto, pode revelar-se um caminho promissor, uma vez que se sabe que grande parte dos compostos bioativos permanece neste resíduo de biomassa fresca, sobretudo na casca, mesmo após a extração do sumo e de grande parte da polpa (Peschel *et al.*, 2006; Lu & Foo, 2000). Estima-se que a indústria de sumos de fruta produza anualmente vários milhões de toneladas de bagaço de maçã (cerca de 25% da quantidade total de maçãs processadas em todo o mundo) e que apenas 25%-30% destes resíduos, que são compostos essencialmente por casca, sementes e polpa, são usados na alimentação animal, como fertilizantes, combustível, ou para extração de outros componentes (pectinas, etanol, ácido láctico, ácido cítrico, enzimas, entre outros), sendo o restante, entre 70%-75%, colocado em aterros sanitários, provocando consideráveis perdas económicas e gerando uma série de problemas ambientais (O'Shea *et al.*, 2012; Zhong-Tao *et al.*, 2009; Soares *et al.*, 2008; Russ & Schnappinger, 2007; Joshi *et al.*, 2006; Peschel *et al.*, 2006; Lu & Foo, 2000). A valorização do bagaço de maçã através da extração de polifenóis seria, pois, muito interessante, devido sobretudo à redução do impacte ambiental, à valorização económica, ao potencial de criação de emprego e à utilização de compostos biológicos naturais.

Todavia, existem ainda alguns obstáculos económicos que condicionam o enorme potencial de extração de compostos fenólicos à escala industrial a partir do bagaço de maçã, dado que este processo comportaria custos consideráveis, relacionados com a aquisição da matéria-prima, transporte, secagem, controlo para a normalização e extração. Para além do referido, outros problemas concorrem também para a dificuldade na implementação deste processo, designadamente a heterogeneidade dos lotes de matéria-prima, que interfere consideravelmente com a obtenção de extratos de alta qualidade (Peschel *et al.*, 2006). No entanto, apesar de ser difícil a normalização dos extratos, e consequentemente garantir extratos de qualidade elevada e regular, há que continuar a estudar esta via. Outra utilização possível do bagaço de maçã prende-se com a extração de fibras, que possuem ainda uma quantidade considerável de fenólicos, e que permitiria a conjugação do benefício da utilização industrial de fibras de origem natural com um elevado teor de fenólicos associado (Sun-Waterhouse *et al.*, 2008; Wolfe & Liu, 2003b).

Alguns estudos salientam o efeito protetor das maçãs relativamente a algumas formas de cancro, como por exemplo o cancro do pulmão (Linseisen *et al.*, 2007; Feskanich *et al.*, 2000), e a inibição da proliferação de células cancerígenas, sobretudo demonstrado pela casca (He & Liu, 2008; Wolfe *et al.*, 2003a; Liu *et al.*, 2001). Outros trabalhos demonstraram que as maçãs revelam um ligeiro efeito antimicrobiano contra alguns microrganismos, nomeadamente contra a bactéria *H. pylori* (Molnár *et al.*, 2005; Molnár *et al.*, 2010; Alberto *et al.*, 2006; Pastene *et al.*, 2009). Seria muito interessante investigar as atividades antimutagénica e antimicrobiana de algumas variedades, nomeadamente da *Maçã Branca* e da *Maçã Camoesa da Azoia*, e avaliar possíveis correlações com eventuais compostos fenólicos, com o intuito de perceber quais os compostos que se encontram mais correlacionados com os referidos efeitos biológicos.

Outra sugestão de trabalho futuro prende-se com o interesse de se realizarem estudos de digestão simulada que envolvam algumas das variedades aqui estudadas, no sentido de continuarem os esforços para perceber qual a quantidade de fenólicos assimilados pelo organismo após o consumo de maçãs.

Seria também muito importante alargar os estudos referentes à *Maçã Branca*, uma variedade em risco de se perder, circunscrita às imediações do Cabo Espichel (Sesimbra) e conhecida praticamente apenas por pessoas locais e de idade mais avançada. Apesar do trabalho aqui apresentado salientar o elevado teor de fenólicos e a atividade antioxidante revelados por esta variedade, as características próprias da macieira – com uma forma muito particular, crescimento muito lento, dimensão reduzida (80 a 90 cm de altura; assemelha-se mais a um arbusto do que a uma árvore) e com ramos arqueados em direção ao solo, que têm muitas vezes que ser escorados – inviabilizam a sua produção em maior escala. No entanto, é urgente estudar a possibilidade de melhorar as características desta macieira, enquanto as poucas árvores existentes ainda têm quem delas trate.

A última sugestão prende-se com a necessidade de se efetuar um levantamento exaustivo – com o envolvimento de freguesias e autarquias, e porventura de universidades – de todas as variedades de maçãs existentes no território português, com vista ao seu estudo e proteção. Portugal usufrui de condições ideais para o cultivo de maçãs e possui um património de enorme valor, que se não for alvo de atuação imediata continuará a ser delapidado. É preciso agir com prontidão e evitar que muitas variedades se esgotem na memória dos antigos, à medida que estes forem partindo. Voltemos às origens, às conversas com tios e avós, para que delas se permita a descoberta e a recuperação das variedades que outrora serviram de repasto e de aromatizantes naturais de habitações. Garantamos, com isto, que outras gerações terão acesso à diversidade, ao aroma e porventura a propriedades nutracêuticas únicas, de maçãs que foram outrora uma realidade e que se encontram hoje às portas do esquecimento.

6.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberto, M., Canavosio, M., & Manca de Nadra, M. (2006). Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(3):205-209, ISSN:0717-3458.
2. Babbar, N., Oberoi, H., Uppal, D., & Patil, R. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, 44:391-396, doi:10.1016/j.foodres.2010.10.001.
3. Feskanich, D., Ziegler, R., Michaud, D., Giovannucci, E., Speizer, F., Willett, W., & Colditz, A. (2000). Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *Journal of the National Cancer Institute*, 92:1812-1823.
4. Frighetto, R., Welendorf, R., Nigro, E., Frighetto, N., & Siani, A. (2008). Isolation of ursolic acid from apple peels by high speed counter-current chromatography. *Food Chemistry*, 106:767-771, doi: 10.1016/j.foodchem.207.06.003.
5. García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. & Rivas-Gonzalo, J. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, 84:13-18, doi: 10.1016/S0308-8145(03)00160-2.
6. He, Xiangjiu, & Liu, R. H. (2008). Phytochemicals of apple peels: isolation, structure, elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:9905-9910, doi: 10.1021/jf8015255.
7. Linseisen, J., Rohrmann, S., Miller, A., Bueno-de-Mesquita, H., Büchner, F., Vineis, P., Agudo, A., Gram, I., Janson, L., Krogh, V., Overvad, K., Rasmuson, T., Schulz, M., Pischon, T., Kaaks, R., Nieter, A., Allen, N., Key, T., Bingham, S., Khaw, K., Amiano, P., Barricarte, A., Martinez, C., Navarro, C., Quirós, R., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M., Touvier, M., Peeters, P., Berglund, G., Hallmans, G., Lund, E., Palli, D., Panico, S., Tumino, R., Tjønneland, A., Olsen, Anja, Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Autier, P., Boffeta, P., Slimani, N., & Riboli, E. (2007). Fruit and vegetable consumption and lung cancer risk: Updated information from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *International Journal of Cancer*, 121:1103-1114, doi: 10.1002/ijc.22807.
8. Liu, R., Eberhardt, M., Lee, C. (2001). Antioxidant and antiproliferative activities of selected New York apple cultivars. *New York Fruit Quarterly*, 9:15-17.
9. Lu, Y., & Foo, L. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68:81-85.
10. Makris, D., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. (2007). Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology* 98:2963-2967, doi:10.1016/j.biortech.2006.10.003.

11. Molnár, P., Deli, J., Tanaka, T., Kann, Y., Tani, S., Gyémánt, N., Molnár, J., & Kawase, M. (2010). Carotenoids with anti-helicobacter pylori activity from Golden delicious apple. *Phytotherapy Research*, 24:644-648, doi: 10.1002/ptr.2912.
12. Molnár, P., Kawase, M., Satoh, K., Sohara, Y., Tanaka, T., Tani, S., Sakagami, H., Nakashima, H., Motahashi N., Gyémánt, N., & Molnár, J. (2005). Biological activity of carotenoids in Red Paprika, Valencia Orange and Golden delicious apple. *Phytotherapy Research*, 19:700-707, doi: 10.1002/ptr.1735.
13. O'Shea, N., Arendt, E.K., & Gallagher, E. (2012). Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16:1–10, doi:10.1016/j.ifset.2012.06.002.
14. Pastene, E., Troncoso, M., Figueroa, G., Alarcón, J., & Speisky, H. (2009). Association between polymerization degree of apple peel polyphenols and inhibition of *Helicobacter pylori* urease. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57:416-424, doi: 10.1021/jf8025698.
15. Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97:137-150, doi: 10.1016/f.foodchem.2005.03.033.
16. Russ, W. & Schnappinger, M. (2007). Waste related to the food industry: a challenge in material loops. In: Oreopolou, V.; Russ, W. (Ed.). *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry*. Springer, New York, cap. 1, pp. 1-13.
17. Shoji, T., Akazome, Y., Kanda, T., & Ikeda, M. (2004). The toxicology and safety of apple polyphenol extract. *Food and Chemical Toxicology*, 42:959–967, doi:10.1016/j.fct.2004.02.008.
18. Soares, M., Werter, L., Gonzaga, L., Lima, A., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2008). Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(3):727-732, ISSN 0101-2061.
19. Sun-Waterhouse, D., Farr, J., Wibisono, R., & Saleh, Z. (2008). Fruit-based functional foods I: production of food-grade apple fibre ingredients. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(12):2113-2122, doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01806.x.
20. Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. & Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:6532-6538.
21. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:6520-6530.

22. Wolfe, K. L., Wu, X., & Liu, R. H. (2003a). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:609-614, doi: 10.1021/jf020782a.
23. Wolfe, K. L., & Liu, R. H. (2003b). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:1676-1683, doi: 10.1021/jf025916z.
24. Zhong-Tao, S., Lin-Mao, T., Cheng, L. & Jin-Hua, Du. (2009). Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12 (1):1-13, doi: 10.225/vol12-issue1-fulltext-1.



ANEXO I

Perfil de Compostos Fenólicos em Maças - Recolha Bibliográfica

Anexo I.1. Composição de ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos em polpa de maçãs (recolha bibliográfica).

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(b)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(c)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(d)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(e)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(f)	Escarpa & González (1998) ^(g)
Ácido gálico	0,013 – 0,137	-	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	0,138 – 0,213	-	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	0,102 – 0,216	-	-	-	-	-	0,2 – 1,1
Ácido ferúlico	0,041 – 0,111	-	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,082 – 0,292	-	-	0,10 – 10,0	-	-	-
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	-	-	0,39 – 6,40	-	-	0,1 – 12,0	-
Ácido clorogénico	3,940 – 13,579	4,0 – 6,0	2,23 – 21,54	-	11,1 – 11,7	-	2,9 – 35,7
Ácido neoclorogénico	-	-	nd – 1,03	-	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	10,30 – 242,0	-	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	6,1 – 72,4	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	0,60 – 6,40	-	0,8 – 5,9	-
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	-	3,27 – 24,54	-	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (c) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (d) – 31 variedades de maçãs. (e) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (f) - 14 variedades de maçãs. (g) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ^(h)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (2011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(o) Prod. convencional
Ácido gálico	nd – vest.	-	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	-	-	-	-	-	0,11 – 0,73	0,06 – 0,23
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido ferúlico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	-	-	-	-	-	0,04 – 0,69	0,01 – 0,28
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	0,49 – 0,72	0,32 - 14,86	0,48	0,76	-	-	-
Ácido clorogénico	6,72 – 11,2	1,56 - 137,47	6,72	11,4	5,32 – 7,52	6,4 – 39,6	0,8 – 12,9
Ácido neoclorogénico	-	0,0 - 8,42	-	-	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	3,70 - 160,75	7,2	12,2	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (i) - 19 variedades de maçãs. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)				
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(q) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(r)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. convencional
Ácido gálico	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	0,11 - 2,11	0,16 - 2,34
Ácido ferúlico	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	-	-	-	-	-
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	-	-	0,38 – 2,99	0,14 - 1,19	0,13 - 1,14
Ácido clorogénico	15,4	15,1	10,31 – 30,8	2,74 - 17,9	2,43 - 18,0
Ácido neoclorogénico	-	-	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	-	13,22 – 32,80	4,8 - 19,6	5,2 - 20,1

(p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (q) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (r) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious e Ida Red*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (q) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (r) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious e Ida Red*. (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009). nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos		Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
		Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(b)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(c)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(d)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(e)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(f)	Escarpa & González (1998) ^(g)
Flavanóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	3,197 – 7,314	-	nd – 2,77	0,12 – 40,7	0,6 – 5,4	0,07 – 11,3	2,8 – 18,2
	(–)-Epicatequina	2,314 – 6,976	1,0 – 14,0	1,89 – 10,9	4,1 – 77,0	1,9 – 19,8	4,8 – 22,7	1,9 – 11,1
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-	0,5 – 2,7	-
	Procianidina B ₁	-	-	nd – 4,46	-	-	-	1,0 – 8,4
	Procianidina B ₂	-	4,0 – 15,0	2,43 – 14,09	4,0 – 52,9	-	4,6 – 32,4	2,3 – 10,5
	Procianidina B ₃	-	-	-	-	-	-	2,1 – 10,0
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero (isómero)	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	-	nd – 1,69	-	-	-	-
	Procianidinas Totais	-	-	5,34 – 30,00	-	-	67,2 – 304,1	-
	Outros Flavanóis (*)	-	-	-	0.5 – 4.6	-	-	-
	Flavanóis Totais	-	-	-	-	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (c) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (d) – 31 variedades de maçãs. (e) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (f) - 14 variedades de maçãs. (g) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smih*.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

		Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
Compostos		Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ^(h)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (2011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Flavanóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	vest, – 0,08	0,0 - 25,21	0,07	0,07	0,91 – 2,20	0,1 – 2,3	nd – 3,5
	(–)-Epicatequina	3,91 – 5,92	0,0 - 95,75	4,59	7,04	1,46 – 1,91	0,23 – 1,24	0,06 – 0,51
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁	-	0,0 - 11,97	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₂	2,77 – 5,25	0,0 - 15,04	3,37	5,86	-	-	-
	Procianidina B ₃	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero (isómero)	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	0,0 - 44,88	5,61	8,87	-	-	-
	Procianidinas Totais	-	0,0 - 192,85	-	-	-	-	-
	Outros Flavanóis (*)	-	-	-	-	-	-	-
	Flavanóis Totais	-	-	-	-	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (i) - 19 variedades de maçãs. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).

nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

		Valores expressos em mg/100g (peso edível)				
Compostos		Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(r) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. convencional
Flavanóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	-	-	nd – 5,52	0,29 - 2,10	0,39 - 2,28
	(-)-Epicatequina	14,1	14,2	nd – 14,25	2,75 - 3,82	2,27 - 3,21
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁	-	-	nd – 17,28	0,66 - 1,26	0,59 - 1,21
	Procianidina B ₂	-	-	nd – 21,26	2,92 - 5,40	2,14 - 5,21
	Procianidina B ₃	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	14,3	19,0	-	-	-
	Procianidina trimero	-	-	-	0,92 - 1,52	0,82 - 1,97
	Procianidina trimero (isómero)	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	-	-	0,28 – 0,37	0,22 - 0,75
	Procianidinas Totais	-	-	0 – 58,29	-	-
	Outros Flavanóis (*)	-	-	-	-	-
	Flavanóis Totais	-	-	-	8,41 - 11,2	6,5 - 11,9

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire*, *McIntosh*, *Cortland*, *Mutsu*, *Red Delicious*, *Nothorn Spy*, *Golden Delicious* e *Ida Red*. (r) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(b)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(c)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(d)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(e)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(f)	Escarpa & González (1998) ^(g)
Cianidina-3-galactosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Antocianidina	-	-	-	-	-	-	-
Antocianinas Totais	-	-	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3- O -galactosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Rutina	nd	-	-	-	-	-	-
Hiperina (quercetina-3- O -galactosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	-	nd	-	nd – 0,32	-	nd – 0,08	-
Reinourina (quercetina-3-O-xilosídeo)	-	nd	-	-	-	-	-
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O- arabinopiranosídeo)	-	nd	-	-	-	-	-
Avicularina (quercetina 3-O- arabinofuranosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	0,386 – 1,586	nd	nd – 2,23	-	-	0,05 – 0,5	-
Quercetina	-	-	-	nd – 0,60	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	-	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	nd – 0,09	-	nd – Vest.	-
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	0,04 – 0,59	-	-	-
Flavonóis desconhecidos (*)	-	-	-	-	-	Vest. – 0,16	-
Flavonóis Totais	-	-	nd – 2,23	-	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (c) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh*, *Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (d) – 31 variedades de maçãs. (e) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (f) - 14 variedades de maçãs. (g) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ^(h)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (2011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Cianidina-3-galactosídeo	-	nd	-	-	-	-	-
Antocianidina	-	-	-	-	-	-	-
Antocianinas Totais	-	0	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3- O -galactosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Rutina	nd – vest.	-	-	-	-	-	-
Hiperina (quercetina-3- O -galactosídeo)	0,06 – 0,16	-	0,17	0,09	-	-	-
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	nd – vest.	-	0,11	0,14	-	-	-
Reinoutrina (quercetina-3-O-xilosídeo)	0,14 – 0,29	-	0,20	0,20	-	-	-
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	0,33	0,29	-	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O- arabinopiranosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Avicularina (quercetina 3-O- arabinofuranosídeo)	0,16 – 0,28	-	-	-	-	-	-
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	0,51 – 1,00	0,0 - 1,61	0,57	0,91	-	-	-
Quercetina	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	-	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	-	-	-	-
Flavonóis desconhecidos (*)	-	-	-	-	-	-	-
Flavonóis Totais	-	0,20 - 1,61	1,37	1,62	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (i) - 19 variedades de maçãs. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)				
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(r) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. convencional
Cianidina-3-galactosídeo	nd	nd	-	-	-
Antocianidina	-	-	-	-	-
Antocianinas Totais	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	-	-	-	-
Rutina	-	-	-	-	-
Hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	nd	nd	-	0,002 - 0,013	0,005 - 0,012
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	nd	nd	-	0,002 - 0,076	0,002 - 0,049
Reinourina (quercetina-3-O-xilosídeo)	-	-	-	0,008 - 0,108	0,005 - 0,064
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	-	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O-arabinopiranosídeo)	-	-	-	-	-
Avicularina (quercetina 3-O-arabinofuranosídeo)	-	-	-	0,003 - 0,026	0,003 - 0,040
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	nd	nd	nd – 0,64	0,002 - 0,22	0,002 - 0,300
Quercetina	-	-	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	-	-
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	-	-
Flavonóis desconhecidos (*)	-	-	-	-	-
Flavonóis Totais	28,8	33,7	0 – 0,64	0,11 - 0,42	0,11 - 0,40

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious* e *Ida Red*. (r) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(b)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(c)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(d)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(e)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(f)	Escarpa & González (1998) ^(g)
Floridzina	0,512 – 1,327	-	0,27 – 1,61	0,46 – 15,9	0,8 – 1,9	0,7 – 5,6	0,4 – 2,0
Floretina	-	-	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	1,0 – 3,0	-	0,60 – 6,70	-	0,5 – 6,2	-
Floretina-3- xiloglicosídeo	-	-	0,31 – 1,67	-	-	-	-
Floretina derivado	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	-	-	0,2 – 2,1
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	nd – 1,70	-	0,1 – 1,1	-
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	nd – 1,10	-	0,07 – 0,7	-
Dihidrochalconas Totais	-	-	0,58 – 2,97	-	-	-	-
Fenólicos Totais	21,54 – 65,26	-	10,0 – 52,2	-	49,3 – 307,3	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (c) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*.
(d) – 31 variedades de maçãs. (e) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (f) - 14 variedades de maçãs. (g) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*.
nd – Não detectado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ^(h)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (2011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Floridzina	0,92 – 1,32	0,38 - 2,03	1,13	1,33	-	0,4 – 2,3	0,1 – 0,7
Floretina	-	-	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	-	0,86	0,95	-	-	-
Floretina-3- xiloglicosídeo	0,67 – 1,07	0,59 - 9,82	-	-	-	-	-
Floretina derivado	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	0,75 – 1,09	-	-
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Dihidrochalconas Totais	-	1,05 - 11,31	1,99	2,28	-	-	-
Fenólicos Totais	-	6,81 - 368,06	24,1	37,9	-	10,0 – 44,0	2,0 – 14,0

(h) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (i) - 19 variedades de maçãs. (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009).
(t) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009). (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detectado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.1. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)				
	Hagen <i>et al.</i> (2009) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2009) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(r) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. convencional
Floridzina	0,5	0,5	1,21 – 2,79	0,38 - 1,89	0,31 - 1,89
Floretina	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	-	0,23 – 0,75	0,15 - 1,06	0,17 - 0,92
Floretina-3- xiloglicosídeo	-	-	-	-	-
Floretina derivado	-	-	-	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	-	-
Dihidrochalconas Totais	-	-	1,21 – 2,79	0,55 - 2,82	0,66 - 2,64
Fenólicos Totais	28,8	33,7	17,74 – 93,36	20,8 - 51,9	17,4 - 36,2

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious e Ida Red*. (r) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detectado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Anexo I.2. Composição de ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos em casca de maçãs (recolha bibliográfica).

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Mari <i>et al.</i> (2010) ^(b)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(c)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(d)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(e)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(f)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(g)
Ácido gálico	nd	-	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	0,636 – 5,104		-	-	-	-	-
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	0,298 – 0,711		-	-	-	-	-
Ácido ferúlico	0,526 – 1,229		-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,102 – 0,253		-	-	nd – 1,76	-	-
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	-	-	-	nd – 6,69	-	-	0 – 1,29
Ácido clorogénico	4,234 – 19,963	4,58 – 9,87	3,0 – 6,0	3,51 – 27,51	-	8,0 -24,8	-
Ácido neoclorogénico	-	-	-	nd – 2,88	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	-	0,40 – 59,30	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	0,5 – 6,7
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	-	0,09 – 2,83	-	0,10 – 1,55
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	4,58 – 9,87	-	2,71 – 33,03	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Annurca*, *Red Delicious* e *Golden Delicious*. (c) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (d) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (e) – 31 variedades de maçãs. (f) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (g) - 14 variedades de maçãs.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Escarpa & González (1998) ^(h)	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(l) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (20011) ^(m)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(o) Prod. convencional
Ácido gálico	-	nd – 0,51	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	-	-	-	-	-	0,5 – 1,9	0,3 – 3,0
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	nd – 3,8	-	-	-	-	-	-
Ácido ferúlico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	-	-	-	-	-	0,06 – 0,72	0,06 – 0,89
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	-	0,42 – 0,78	0,44	0,72	-	-	-
Ácido clorogénico	0,6 – 44,0	8,6 – 11,0	9,26	11,1	2,82 – 8,96	9,6 – 79,5	4,1 – 26,7
Ácido neoclorogénico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	-	9,7	11,8	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*. (i) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (m) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (n) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (o) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)					
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(q) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(r)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ^(s)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(u) Prod. convencional
Ácido gálico	-	-	-	-	-	-
Ácido protocatecuico	-	-	-	-	-	-
Ácidos hidroxibenzóicos Totais	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	1,9 - 5,7	1,4 - 2,5
Ácido ferúlico	-	-	-	-	-	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	-	-	-	-	-	-
ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	-	-	0,54 - 3,36	0,33 - 7,35	4,2 - 7,0	3,5 - 5,2
Ácido clorogénico	4,1	6,5	1,93 - 23,36	0,43 - 75,78	3,3 - 29,1	3,1 - 29,4
Ácido neoclorogénico	-	-	-	-	-	-
Ácido 3-cafeoilquínico	-	-	-	nd - 3,36	-	-
Ácido 4-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-
Ácido 5-cafeoilquínico	-	-	-	-	-	-
Ácido cafeico	-	-	-	-	-	-
AH não identificados (*)	-	-	-	nd - 3,35	-	-
Ácidos hidroxicinâmicos Totais	-	-	3,35 - 24,74	3,34 - 83,13	10,9 - 38,7	10,2 - 36,6

(p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (q) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (r) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious* e *Ida Red*. (s) - 19 variedades de maçãs. (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (u) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

		Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
Compostos		Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Mari <i>et al.</i> (2010) ^(b)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(c)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(d)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(e)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(f)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(h)
Flavanóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	12,62 – 36,63	1,41 – 5,16	-	2,67 – 8,45	0,06 – 4,10	0,7 – 10,3	0,03 – 1,7
	(-)-Epicatequina	12,76 – 42,31	11,4 – 31,5	13,0 – 67,0	20,53 – 43,84	1,17 – 30,20	15,9 – 96,1	1,1 – 8,1
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-	-	0,2 – 0,6
	Procianidina B ₁	-	3,05 – 8,86	-	5,44 – 16,86	-	-	-
	Procianidina B ₂	-	15,0 – 33,7	12,0 – 60,0	14,34 – 33,25	1,0 – 25,2	-	0,8 – 5,6
	Procianidina B ₃	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero	-	8,24 – 14,6	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero (isómero)	-	16,6 – 31,9	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	6,9 – 36,0	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	10,2 – 13,4	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	-	-	-	0,17 – 2,54	-	-
	Procianidinas Totais	-	60,8 – 130,0	-	55,07 - 91,61	-	-	36,0 – 92,9
	Flavanóis Totais	-	-	-	-	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Annurca*, *Red Delicious* e *Golden Delicious*. (c) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (d) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (e) - 31 variedades de maçãs. (f) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (g) - Variedades (6): *Pinova*, *Reinders*, *Jonagold*, *Iduna*, *Braeburn* e *Nectar*. (h) - 14 variedades de maçãs.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

		Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
Compostos		Escarpa & González (1998) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ^(j)	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(l) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (20011) ^(m)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(o) Prod. convencional
Flavonóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	6,6 – 48,6	Vest. – 0,13	0,06	0,06	9,81 – 12,18	-	-
	(-)-Epicatequina	8,2 – 48,1	19,7 – 25,5	22,2	22,3	5,12 – 9,94	0,9 – 6,2	1,1 – 4,2
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁	3,2 – 24,2	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₂	6,9 – 65,9	12,9 – 16,4	13,2	15,3	-	-	-
	Procianidina B ₃	1,1 – 15,8	-	-	-	-	1,7 – 5,7	0,6 – 3,7
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero (isómero)	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	-	30,4	34,4	-	-	-
	Procianidinas Totais	-	-	43,6	49,7	-	-	-
Flavanóis Totais		-	-	-	-	-	-	-

(i) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (m) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (n) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (o) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).

nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

		Valores expressos em mg/100g (peso edível)					
Compostos		Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(q) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(r)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ^(s)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(u) Prod. convencional
Flavonóis (ou catequinas) Totais	(+)-Catequina	-	-	nd - 12,39	0,54 - 31,89	6,4 - 21,4	6,9 - 17,5
	(-)-Epicatequina	23,5	41,5	7,81 - 59,16	4,46 - 138,08	13,7 - 30,2	13,0 - 26,6
	Flavan-3-óis desconhecidos	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁	-	-	nd - 25,44	0,0 - 21,01	1,1 - 6,4	3,6 - 6,7
	Procianidina B ₂	-	-	7,32 - 46,81	2,38 - 123,66	18,8 - 31,3	18,4 - 20,6
	Procianidina B ₃	-	-	-	-	-	-
	Procianidina B ₁ + Procianidina B ₂	13,8	23,6	-	-	-	-
	Procianidina trimero	-	-	-	-	-	-
	Procianidina trimero (isómero)	-	-	-	-	-	-
	Procianidina tetrâmero	-	-	-	-	-	-
	Procianidina pentâmero	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas oligoméricas	-	-	-	-	-	-
	Procianidinas poliméricas	-	-	-	-	-	-
	Outras procianidinas (*)	-	-	nd - 24,38	4,5 - 84,33	-	-
	Procianidinas Totais	-	-	15,13 - 165,48	9,39 - 398,97	-	-
	Flavonóis Totais	-	-	-	-	46,7 - 95,2	45,6 - 68,3

(p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (q) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (r) - Variedades de maçãs (8): *Empire*, *McIntosh*, *Cortland*, *Mutsu*, *Red Delicious*, *Nothorn Spy*, *Golden Delicious* e *Ida Red*. (s) - 19 variedades de maçãs. (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (u) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Mari <i>et al.</i> (2010) ^(b)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(c)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(d)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(e)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(f)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(g)
Cianidina-3-galactosídeo	-	nd – 23,7		nd – 28,68	-	-	-
Ideaina	-	-	-	-	nd – 2,50	-	nd – 0,97
Antocianidina	-	-	-	-	-	-	-
Outras antocianinas (*)	-	-	-	-	-	-	nd – 0,09
Antocianinas Totais	-	nd – 23,7	-	nd – 28,68	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Annurca*, *Red Delicious* e *Golden Delicious*. (c) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (d) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (e) – 31 variedades de maçãs. (f) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (g) - 14 variedades de maçãs.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Escarpa & González (1998) ^(h)	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (20011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Cianidina-3-galactosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Ideaina	-	-	-	-	-	-	-
Antocianidina	nd – 103,7	-	-	-	-	-	-
Outras antocianinas (*)	-	-	-	-	-	-	-
Antocianinas Totais	-	-	-	-	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*. (i) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)					
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ^(r)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. convencional
Cianidina-3-galactosídeo	nd	49,5	nd - 20,82	0,0 - 23,70	0,17 - 49,9	0,27 - 13,4
Ideaina	-	-	-	-	-	-
Antocianidina	-	-	-	-	-	-
Outras antocianinas (*)	-	-	-	-	0,037 - 2,9	0,016 - 2,1
Antocianinas Totais	-	-	0 - 20,82	0,0 - 23,70	0,15 - 18,1	0,19 - 15,8

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire*, *McIntosh*, *Cortland*, *Mutsu*, *Red Delicious*, *Nothorn Spy*, *Golden Delicious* e *Ida Red*. (r) - 19 variedades de maçãs. (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina*, *Topaz*, *Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Mari <i>et al.</i> (2010) ^(b)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(c)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(d)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(e)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(f)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(g)
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	46,5 – 68,5	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo)	11,69 – 85,66	-	-	-	-	-	-
Hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	-	-	8,64 – 31,02	-	-	-
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	-	6,42 – 28,5	22,0 – 37,0	2,41 – 16,19	0,33 – 2,50	-	0,2 – 2,4
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Reinoutrina (quercetina-3-O-xilosídeo)	-	10,2 – 23,8	10,0 – 15,0	2,35 – 10,07	-	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O-arabinopiranosídeo)	-	5,62 – 15,5	13,0 – 20,0	5,14 – 20,64	-	-	-
Avicularina (quercetina 3-O-arabinofuranosídeo)	-	18,8 – 41,3	-	-	1,0 – 6,7	-	0,9 – 5,2
Reinoutrina	-	-	-	-	-	-	-
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	19,76 – 75,82	26,4 – 29,2	20,0 – 23,0	5,13 – 21,24	-	-	0,3 – 2,9
Quercetina	-	0,40 – 3,17	-	-	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	0,10 – 7,01	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	-	1,1 – 6,0	-	0,4 – 6,8
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	-	0,37 – 2,70	-	-
Outros flavonóis (*)	-	-	-	1,63 – 12,41	0,04 – 0,6	-	0,54 – 3,8
Flavonóis Totais	-	117,0 – 210,0	-	31,22 – 70,29	-	-	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Annurca*, *Red Delicious* e *Golden Delicious*. (c) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (d) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (e) – 31 variedades de maçãs. (f) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (g) - 14 variedades de maçãs.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Escarpa & González (1998) ^(h)	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ⁽ⁱ⁾ Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (20011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo)	13,6 – 67,1	0,28 – 1,34	0,32	0,48	-	5,7 – 179,5	22,0 – 144,9
Hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	5,0 – 19,9	6,91	9,46	-	-	-
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	-	1,5 – 5,8	2,44	3,12	-	-	-
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	3,63	4,61	-	-	-
Reinourtrina (quercetina-3-O-xilosídeo)	-	-	8,44	10,5	-	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O-arabinopiranosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Avicularina (quercetina 3-O-arabinofuranosídeo)	-	7,0 – 15,7	-	-	-	-	-
Reinourtrina	-	2,81 -7,11	-	-	-	-	-
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	-	5,3 – 15,1	6,41	9,43	-	1,2 – 44,5	5,9 – 49,4
Quercetina	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	-	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	-	11,54 – 23,51	-	-
Outros flavonóis (*)	5,6 – 54,9	-	-	-	-	-	-
Flavonóis Totais	-	-	2,82	37,6	-	-	-

(h) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*. (i) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção convencional). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).

nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)					
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ^(r)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. convencional
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo) + hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	-	-	-	-	-
Rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo)	-	-	-	-	0,82 - 10,3	0,68 - 13,9
Hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo)	-	-	5,78 - 10,11	1,61 - 17,35	20,2 - 26,4	14,3 - 26,5
Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo)	-	-	1,18 - 8,92	-	1,7 - 13,9	1,8 - 13,0
Reinoutrina (quercetina-3-O-xilosídeo)	-	-	2,03 - 4,49	1,30 - 10,09	6,8 - 13,6	5,8 - 11,4
Quercetina 3-O-arabinosídeo	-	-	4,35 - 10,33	1,64 - 5,42	-	-
Guajaverina (quercetina 3-O- arabinopiranosídeo)	-	-	-	-	0,92 - 2,2	0,9 - 1,4
Avicularina (quercetina 3-O- arabinofuranosídeo)	-	-	-	-	9,6 - 16,9	8,0 - 16,2
Reinoutrina	-	-	-	-	-	-
Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo)	-	-	3,23 - 6,39	0,44 - 10,86	8,0 - 20,0	5,6 - 18,6
Quercetina	0,6 ⁽⁺⁾	62,3 ⁽⁺⁾	-	-	-	-
Glicosídeo de Isoramnetina	-	-	-	-	-	-
Hiperosídeo	-	-	-	-	-	-
Glicosídeo de quercetina (*)	-	-	-	-	-	-
Outros flavonóis (*)	-	-	-	1,54 - 32,15	-	-
Flavonóis Totais	39,3	180,0	2,203 - 34,99	9,06 - 52,40	59,7 - 94,1	47,0 - 91,6

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious e Ida Red*. (r) - 19 variedades de maçãs. (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne e Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos. (+) – Somatório de Hiperina (quercetina-3-O-galactosídeo), Isoquercitrina (quercetina-3-O-glucosídeo) e Quercitrina (quercetina -3-O-rhamnosídeo).

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Petkovšek <i>et al.</i> (2007) ^(a)	Mari <i>et al.</i> (2010) ^(b)	Burda <i>et al.</i> (1990) ^(c)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2008) ^(d)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2004) ^(e)	Kondo <i>et al.</i> (2002) ^(f)	Alonso-Salces <i>et al.</i> (2005) ^(g)
Floridzina	3,476 – 15,361	5,20 – 17,9	-	2,55 – 8,72	0,69 – 37,8	32, 4 – 75,2	0,7 – 12,3
Floretina	-	6,35 – 6,81	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	5,79 – 17,8	6,0 – 23,0	-	0,40 – 6,0	-	0,2 – 2,8
Floretina-3- xiloglicosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Floretina derivado	-	-	-	4,21 – 11,80	-	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	-	-	-
3-hidroxifloretina 2-xiglucosídeo	-	-	-	-	-	-	-
3-hidroxifloretina 2-glucosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	-	0,12 – 1,24	-	0,1 – 2,1
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	-	0,06 – 0,27	-	0,1 – 1,1
Dihidrochalconas Totais	-	17,8 – 42,5	-	6,79 – 17,01	-	-	-
Fenólicos Totais	105,96 – 352,88	217 - 446	-	101,2 – 215,4	-	346,5 – 917,3	-

(a) - 9 variedades de maçãs. (b) - Variedades (3): *Annurca*, *Red Delicious* e *Golden Delicious*. (c) - Variedades (3): *Golden Delicious*, *Empire* e *Rhode Island Greening*. (d) - Variedades (8): *SuperMac*, *SJC7138-2*, *SJCA16R5A15*, *SJC658*, *McIntosh Summerland*, *Spartan*, *Belmac* e *Gala*. (e) – 31 variedades de maçãs. (f) - Variedades (3): *Fuji*, *Oorion* e *Redfield*. (g) - 14 variedades de maçãs.
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)						
	Escarpa & González (1998) ^(h)	Chinnici <i>et al.</i> (2004a) ⁽ⁱ⁾	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(j) Prod. biológica	Chinnici <i>et al.</i> (2004b) ^(k) Prod. convencional	Carbone <i>et al.</i> (20011) ^(l)	Veberic <i>et al.</i> (2005) ^(m) Prod. biológica	Veberic <i>et al.</i> (2005) ⁽ⁿ⁾ Prod. convencional
Floridzina	1,2 – 41,8	8,4 – 17,4	12,5	10,3	-	5,7 – 33,5	5,0 – 24,3
Floretina	-	-	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	-	4,08	4,53	-	-	-
Floretina-3- xiloglicosídeo	-	3,2 – 5,8	-	-	-	-	-
Floretina derivado	2,9 – 12,2	-	-	-	-	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	0,77 – 1,05	-	-
3-hidroxifloretina 2-xigluco-sídeo	-	-	-	-	-	-	-
3-hidroxifloretina 2-glucosídeo	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	-	-	-	-
Dihidrochalconas Totais	-	-	16,6	14,9	-	-	-
Fenólicos Totais	-	-	120,4	137,4	-	47,0 – 337,0	69,0 – 228,0

(h) - Variedades de maçãs (4): *Golden*, *Green Reineta*, *Red Delicious* e *Granny Smith*. (i) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious*. (j) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção biológica). (k) - Variedades de maçãs (1): *Golden Delicious* (média de 8 amostras) (produção convencional). (l) - Variedades de maçãs (3): *Kikut* (clone da *Fuji*), *Hillwell* (híbrido da *braeburn*) e *Golden clone B*. (m) - 22 variedades de maçãs de produção biológica (variedades diferentes das de produção biológica). (n) - 22 variedades de maçãs de produção convencional (variedades diferentes das de produção biológica).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

Tabela I.2. (Continuação)

Compostos	Valores expressos em mg/100g (peso edível)					
	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(o) Frutos à Sombra	Hagen <i>et al.</i> (2007) ^(p) Frutos ao Sol	Tsao <i>et al.</i> (2003) ^(q)	Khanizadeh <i>et al.</i> (2007a) ^(r)	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(s) Prod. biológica	Petkovšek <i>et al.</i> (2010) ^(t) Prod. convencional
Floridzina	1,3	3,5	3,76 - 17,20	1,95 - 66,86	5,9 - 16,2	5,6 - 12,4
Floretina	-	-	-	-	-	-
Floretina-2-O-xiloglicosídeo	-	-	1,64 - 5,16	-	3,1 - 28,9	3,4 - 25,6
Floretina-3- xiloglicosídeo	-	-	-	-	-	-
Floretina (derivado)	-	-	-	2,06 - 48,52	-	-
Glicosídeos de Floretina (*)	-	-	-	-	-	-
3-hidroxifloretina 2-xiglucosídeo	-	-	nd - 0,77	-	-	-
3-hidroxifloretina 2-glucosídeo	-	-	nd - 1,60	-	-	-
Hidroxifloretina (monoglicosídeo)	-	-	-	-	-	-
Hidroxifloretina (diglicosídeo)	-	-	-	-	-	-
Dihidrochalconas Totais	-	-	6,6 - 16,1	4,55 - 128,67	8,9 - 40,9	8,9 - 36,6
Fenólicos Totais	43,3	187,0	101,65 - 235,04	41,89 - 250,40	156,7 - 163,1	130,2 - 155,5

(o) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs abrigadas do sol). (p) - Variedades de maçãs (1): *Aroma* (maçãs expostas ao sol). (q) - Variedades de maçãs (8): *Empire, McIntosh, Cortland, Mutsu, Red Delicious, Northern Spy, Golden Delicious* e *Ida Red*. (r) - 19 variedades de maçãs. (s) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção biológica – colheita 2009). (t) - Variedades de maçãs (4): *Florina, Topaz, Reinette de Champagne* e *Crown Prince Rudolf* (produção convencional – colheita 2009).
nd – Não detetado. Vest. – Vestígios. (*) – Não identificados/desconhecidos.

ANEXO I. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso-Salces, R.M., Barranco A., Abad, B., Berrueta, L.A., Gallo, B., & Vicente F. (2004). Polyphenolic profiles of basque cider apple cultivars and their technological properties. *Journal of Agruculture and Food Chemistry*, 52:2938-2952, doi: 10.1021/jf035416l.
2. Alonso-Salces, R.M., Herrero, C., Barranco A., Berrueta, L.A., Gallo, B., & Vicente F. (2005). Classification of apple fruits according to their maturity state by the pattern recognition analysis of their polyphenolic compositions. *Food Chemistry*, 93:113-123, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.013.
3. Burda, S., Oleszek, W., & Lee, Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38:945-948, doi: 10.1021/jf00094a006.
4. Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Lo Scalzo, R., & Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127:493-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.030.
5. Chinnici, F., Gaiani, A., Natali, N., Riponi, C., & Galassim, S. (2004a). Improved HPLC determination of phenolic compounds in cv. golden delicious apples using a monolithic column. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:3-7.
6. Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004b). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52:4684-4689.
7. Escarpa, A., & González, M.C. (1998). High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *Journal of Chromatography A*, 823:331–337.
8. Hagen, S.F., Borge, G.I., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., & Solhaug, K. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation Postharvest Biology and Technology, 45:1–10, doi:10.1016/j.postharvbio.2007.02.002.
9. Khanizadeh, S., Ding, L. Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. Vigneault, C., Rupasinghe, H.P.V. (2007a). Phytochemical distribution among selected advanced apple genotypes developed for fresh market and processing. *Journal of Agricultural, Food & Environmental Sciences*, 1(2), online-ISSN: 1934-7235.
10. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for

- processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.
11. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M., & Rupasinghe, V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Compositions and Analysis*, 21:396-401, doi: 10.106/j.fca.2008.03.004.
 12. Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., & Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apple skin or fles extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96:177-185.
 13. Mari, A., Tedesco, I., Nappo, A., Russo, G., Malorni, A., & Carbone V. (2010). Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of "Annurca" Apple, a southern Italian cultivar. *Food Chemistry*, 123:157-164, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.02.023.
 14. Petkovšek, M.M., Štampar, F., & Veberič, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114:37-44, doi: 10.1016/j.scienta.2007.05.004.
 15. Petkovšek, M.M., Slatnar, A., Štampar, F., & Veberič. (2010). The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:2366-2378, doi: 10.1002/jsfa.4093.
 16. Tsao, R., Yang, R., Young, J.C., & Zhu, H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:6347-6353, doi: 10.1021/jf0346298.
 17. Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1687-1694, doi: 10.1002/jsfa.2113.



ANEXO II

**Correlações de Pearson entre o Teor de Sólidos
Totais, Cinzas e Minerais de Variedades
Exóticas e Tradicionais**

Anexo II.1. Comparação das correlações de Pearson entre o teor de sólidos totais, cinzas e compostos minerais tendo em consideração 3 grupos de variedades de maçãs (todas as variedades, variedades tradicionais + *Reineta Parda* e variedades exóticas excluindo a *Reineta Parda*).

		Sólidos Totais			Cinzas			K			Mg		
		TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP
Cinzas	Pearson Correlation	0,77**	0,78**	0,94**									
	Sig. (2-tailed)	0,00	0,00	0,00									
K	Pearson Correlation	0,54**	0,56**	0,64*	0,30	0,27	0,47						
	Sig. (2-tailed)	0,00	0,00	0,05	0,08	0,21	0,17						
Mg	Pearson Correlation	0,36*	0,33	0,62	0,47**	0,34	0,53	0,46**	0,44*	0,83**	1,00	1,00	
	Sig. (2-tailed)	0,04	0,12	0,06	0,01	0,10	0,11	0,01	0,03	0,00			
Ca	Pearson Correlation	0,27	0,42*	-0,59	0,37*	0,35	-0,46	0,07	0,35	-0,75*	0,18	0,05	-0,83**
	Sig. (2-tailed)	0,12	0,04	0,07	0,03	0,10	0,18	0,71	0,09	0,01	0,31	0,80	0,00
Na	Pearson Correlation	0,23	0,17	0,57	0,34	0,13	0,71*	0,15	0,25	-0,18	0,58**	0,54**	0,07
	Sig. (2-tailed)	0,18	0,42	0,08	0,05	0,54	0,02	0,40	0,24	0,61	0,00	0,01	0,85
Fe	Pearson Correlation	0,48**	0,54**	0,66*	0,58**	0,49*	0,47	0,38*	0,19	0,90**	0,40*	0,04	0,86**
	Sig. (2-tailed)	0,00	0,01	0,04	0,00	0,02	0,17	0,03	0,37	0,00	0,02	0,84	0,00
Al	Pearson Correlation	0,10	-0,05	0,27	0,26	-0,16	0,04	0,25	-0,01	0,72*	0,36*	-0,15	0,42
	Sig. (2-tailed)	0,59	0,83	0,46	0,14	0,45	0,92	0,15	0,97	0,02	0,04	0,48	0,23
Mn	Pearson Correlation	0,17	0,13	0,35	0,16	0,09	0,18	0,45**	0,35	0,91**	0,47**	0,40	0,78**
	Sig. (2-tailed)	0,35	0,54	0,33	0,36	0,67	0,61	0,01	0,10	0,00	0,01	0,05	0,01
Zn	Pearson Correlation	0,05	0,16	0,01	-0,20	-0,07	0,28	0,02	0,54**	-0,67*	-0,11	0,42*	-0,55
	Sig. (2-tailed)	0,79	0,46	0,97	0,26	0,73	0,44	0,92	0,01	0,03	0,55	0,04	0,10
Ni	Pearson Correlation	0,10	0,14	0,01	-0,07	-0,05	0,21	0,11	0,53**	-0,75*	0,11	0,39	-0,59
	Sig. (2-tailed)	0,59	0,51	0,99	0,68	0,80	0,55	0,55	0,01	0,01	0,54	0,06	0,07
Mo	Pearson Correlation	0,26	0,34	-0,04	0,27	0,34	-0,21	-0,11	-0,01	-0,30	0,03	-0,03	-0,38
	Sig. (2-tailed)	0,14	0,10	0,91	0,12	0,11	0,56	0,53	0,95	0,39	0,87	0,88	0,28
TV – todas as variedades; T + ReP – Variedades tradicionais + <i>Reineta Parda</i> ; T - ReP – Variedades exóticas sem <i>Reineta Parda</i> . ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$.													

Tabela II.1. (Continuação)

		Ca			Na			Fe			Al		
		TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP
Cinzas	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)												
K	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)												
Mg	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)												
Ca	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)												
Na	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	0,37* 0,03	0,23 0,28	-0,13 0,71									
Fe	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	0,13 0,45	-0,09 0,69	-0,94** 0,00	0,46** 0,01	0,36 0,08	0,01 0,97						
Al	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	0,26 0,14	-0,52** 0,01	-0,19 0,60	0,19 0,27	-0,24 0,26	-0,50 0,14	0,68** 0,00	0,38 0,07	0,50 0,14			
Mn	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	0,16 0,36	0,23 0,27	-0,81** 0,00	0,00 0,98	-0,04 0,86	-0,38 0,28	0,11 0,55	-0,23 0,28	0,89** 0,00	0,11 0,54	-0,40 0,05	0,58 0,08
Zn	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	-0,31 0,07	-0,22 0,29	0,54 0,11	0,12 0,50	0,47* 0,02	0,66* 0,04	-0,35* 0,04	0,39 0,06	-0,67* 0,04	-0,54** 0,00	0,46* 0,02	-0,71* 0,02
Ni	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	-0,14 0,44	-0,20 0,35	0,53 0,11	0,32 0,06	0,41* 0,04	0,70* 0,02	-0,16 0,35	0,20 0,35	-0,67* 0,04	-0,23 0,19	0,37 0,08	-0,72* 0,02
Mo	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	0,09 0,63	-0,23 0,28	0,33 0,36	0,32 0,07	0,30 0,16	0,07 0,86	0,50** 0,00	0,81** 0,00	-0,21 0,57	0,41* 0,02	0,53** 0,01	0,17 0,64
TV – todas as variedades; T + ReP – Variedades tradicionais + <i>Reineta Parda</i> ; T - ReP – Variedades exóticas sem <i>Reineta Parda</i> . ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$.													

Tabela II.1. (Continuação)

		Mn			Zn			Ni		
		TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP	TV	T + ReP	E - ReP
Cinzas	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
K	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Mg	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Ca	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Na	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Fe	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Al	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Mn	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)									
Zn	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	-0,26 0,13	-0,03 0,88	-0,80** 0,01						
Ni	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	-0,45** 0,01	-0,34 0,11	-0,88** 0,00	0,77** 0,00	0,76** 0,00	0,96** 0,00			
Mo	Pearson Correlation Sig. (2-tailed)	-0,50** 0,00	-0,67** 0,00	-0,43 0,22	-0,02 0,90	0,27 0,20	0,02 0,96	0,23 0,19	0,33 0,11	0,25 0,48
TV – todas as variedades; T + ReP – Variedades tradicionais + <i>Reineta Parda</i> ; T - ReP – Variedades exóticas sem <i>Reineta Parda</i> . ** Significativo a p < 0,01; * Significativo a p < 0,05.										



ANEXO III

**Correlações de Pearson entre as Diversas
Classes de Fenólicos e o Teor de Fenólicos
Totais e a Atividade Antioxidante**

Anexo III.1. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na polpa de 17 variedades de Portugal.

Composto	Folin-Ciocalteu	FRAP	DPPH
Ácido Hidroxicinâmico 1*	0,21	0,38*	0,11
Ácido Gálico	0,64**	0,50**	0,36*
(-)-Galocatequina	a	a	a
Ácido Protocatecuico	-0,33	-0,43*	-0,14
Procianidina 1*	0,59**	0,44**	0,15
(+)-Catequina	0,40*	0,32	-0,13
Ácido clorogénico	0,53**	0,34	0,42*
Ácido cafeico	0,16	0,03	0,11
Flavanol (catequina) 2*	0,81**	0,81**	0,43*
Procianidina B2	0,82**	0,73**	0,40*
(-)-Epicatequina	0,66**	0,51**	0,03
(-)-Epigallocatequina-3-galato	a	a	a
Ácido p-cumárico	0,60**	0,57**	0,48**
Flavanol (catequina) 3*	0,83**	0,75**	0,34*
(-)-Galocatequina-3-galato	a	a	a
Flavanol (catequina) 4*	0,79**	0,78**	0,33
Flavanol (catequina) 5*	0,85**	0,83**	0,37*
Flavanol (catequina) 6*	0,58**	0,61**	0,32
Ácido Ferúlico	-0,03	0,10	0,16
(-)-Epicatequina-3-galato	0,17	0,32	0,27
(-)-Catequina-3-galato	0,47**	0,55**	0,75**
Isoquercitrina	0,00	0,17	-0,02
Floretina derivado 1*	0,63**	0,32	0,33
Flavonol 4*	0,31	0,57**	0,50**
Quercitrina	0,46**	0,60**	0,65**
Ácido Hidroxicinâmico 4*	-0,03	-0,01	0,20
Floridzina	0,68**	0,45**	0,36*
Quercetina	0,21	0,42*	0,23
Floretina	0,52**	0,55**	0,63**
Fenólicos Totais (HPLC)	0,83**	0,70**	0,37*

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respetivo grupo.

Anexo III.2. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na casca de 17 variedades de Portugal.

Composto	Folin-Ciocalteu	FRAP	DPPH
Flavanol (catequina) 5*	0,52**	0,53**	0,41*
Antocianina 3*	a	a	a
Flavanol (catequina) 6*	0,15	0,00	0,10
Ácido Ferúlico	0,49**	0,32	0,48**
(-)-Epicatequina-3-galato	0,34*	0,18	0,30
(-)-Catequina-3-galato	0,39*	0,37*	0,37*
Flavanol (catequina) 7*	0,42*	0,28	0,40*
Flavanol 1*	0,52**	0,64**	0,59**
Flavanol 2*	0,01	-0,04	0,16
Isoquercitrina	0,54**	0,35*	0,48**
Flavanol 3*	0,42*	0,33	0,33
Floretina derivado 1*	0,63**	0,72**	0,56**
Flavanol 4*	-0,12	-0,03	-0,22
Quercitrina	0,60**	0,44**	0,58**
Ácido Hidroxicinâmico 4*	0,58**	0,69**	0,56**
Floridzina	a	a	a
Quercetina	-0,13	-0,06	-0,18
Floretina	0,62**	0,62**	0,56**
Fenólicos Totais (HPLC)	0,72**	0,77**	0,69**
Flavanol (catequina) 5*	a	a	a
Antocianina 3*	0,78**	0,82**	0,73**
Flavanol (catequina) 6*	0,73**	0,81**	0,70**
Ácido Ferúlico	-0,14	-0,06	-0,18
(-)-Epicatequina-3-galato	0,27	0,35*	0,29
(-)-Catequina-3-galato	a	a	a
Flavanol (catequina) 7*	0,29	0,33	0,25
Flavanol 1*	a	a	a
Flavanol 2*	-0,14	-0,04	-0,10
Isoquercitrina	0,38*	0,23	0,27
Flavanol 3*	0,46**	0,35*	0,29
Floretina derivado 1*	0,53**	0,47**	0,48**
Flavanol 4*	0,64**	0,60**	0,50**
Quercitrina	0,29	0,21	0,31
Ácido Hidroxicinâmico 4*	0,59**	0,56**	0,46**
Floridzina	0,46**	0,48**	0,32
Quercetina	0,25	0,22	0,25
Floretina	0,44**	0,34	0,41*
Fenólicos Totais (HPLC)	0,47**	0,54**	0,38*

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respetivo grupo.

Anexo III.3. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH) em 17 variedades (polpa + casca) de Portugal.

Composto	Folin-Ciocalteu	FRAP	DPPH
Ácido Hidroxicinâmico 1	0,18	0,32	0,14
Ácido gálico	0,62**	0,63**	0,51**
(-)-Galocatequina	a	a	a
Ácido protocatecuico	-0,22	-0,31	-0,09
Ácido Hidroxicinâmico 2*	0,36*	0,03	0,22
Flavanol (catequina) 1*	0,16	0,18	0,05
Procianidina 1*	0,57**	0,47**	0,31
Ácido Hidroxibenzóico 1*	0,27	0,26	0,22
(+)-Catequina	0,41*	0,37*	-0,01
Ácido Hidroxicinâmico 3*	-0,09	0,01	-0,01
Ácido clorogénico	0,54**	0,34*	0,43*
Ácido cafeico	0,17	0,10	0,22
Flavanol (catequina) 2*	0,78**	0,82**	0,57**
Procianidina B2	0,81**	0,76**	0,52**
Antocianina 1*	-0,18	-0,08	0,01
Ácido Hidroxibenzóico 2*	0,38*	0,29	0,53**
(-)-Epicatequina	0,64**	0,56**	0,21
(-)-Epigallocatequina-3-galato	a	a	a
Antocianina 2*	-0,14	-0,09	-0,18
Ácido p-cumárico	0,61**	0,60**	0,51**
Flavanol (catequina) 3*	0,82**	0,77**	0,48**
(-)-Galocatequina-3-galato	a	a	a
Flavanol (catequina) 4*	0,79**	0,80**	0,47**
Flavanol (catequina) 5*	0,83**	0,82**	0,48**
Antocianina 3*	-0,15	-0,10	-0,19
Flavanol (catequina) 6*	0,49**	0,57**	0,35*
Ácido Ferúlico	0,01	0,10	0,05
(-)-Epicatequina-3-galato	0,26	0,38*	0,42*
(-)-Catequina-3-galato	0,46**	0,52**	0,74**
Flavanol (catequina) 7*	-0,04	0,06	-0,35*
Flavonol 1*	0,27	0,17	0,26
Flavonol 2*	0,21	0,23	0,23
Isoquercitrina	0,21	0,30	0,22
Flavonol 3*	0,39*	0,48**	0,39*
Floretina derivado	0,55**	0,29	0,31
Flavonol 4*	0,34	0,45**	0,40*

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respetivo grupo. Correlações muito fortes salientadas a negrito.

Tabela III.3. (Continuação)

Composto	Folin-Ciocalteu	FRAP	DPPH
Quercitrina	0,40*	0,54**	0,47**
Ácido Hidroxicinâmico 4*	0,14	0,02	-0,09
Floridzina	0,59**	0,34*	0,35*
Quercetina	0,40*	0,47**	0,41*
Floretina	0,54**	0,64**	0,84**
Fenólicos Totais (HPLC)	0,83**	0,74**	0,51**

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respectivo grupo. Correlações muito fortes salientadas a negrito.

Anexo III.4. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na polpa de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.

Composto	Folin-Ciocalteu		FRAP		DPPH	
	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP
Ácido Hidroxicinâmico 1	0,24	-0,24	0,32	0,07	0,09	-0,35
Ácido Gálico	0,71**	0,59*	0,61**	0,39	0,40	0,31
Ácido Protocatecuico	-0,19	-0,51	-0,31	-0,64*	-0,14	0,37
Procianidina 1	0,56**	0,62*	0,39	0,29	0,03	0,54
(+)-Catequina	0,46*	-0,12	0,24	0,24	-0,19	-0,40
Ácido clorogénico	0,53*	0,68*	0,52*	0,37	0,58**	0,40
Ácido cafeico	-0,06	0,57	-0,20	0,16	-0,02	0,63*
Flavanol (catequina) 2	0,83**	0,89**	0,79**	0,78**	0,44*	-0,03
Procianidina B2	0,80**	0,87**	0,78**	0,52	0,36	0,43
(-)-Epicatequina	0,56**	0,86**	0,47*	0,61*	-0,07	0,33
Ácido p-cumárico	0,53*	0,80**	0,56**	0,37	0,42	0,65*
Flavanol (catequina) 3	0,80**	0,91**	0,79**	0,61*	0,30	0,37
Flavanol (catequina) 4	0,72**	0,94**	0,82**	0,63*	0,29	0,38
Flavanol (catequina) 5	0,83**	0,95**	0,84**	0,75**	0,36	0,21
Flavanol (catequina) 6	0,63**	0,25	0,55**	0,49	0,37	-0,43
Ácido Ferúlico	0,04	^a	0,21	^a	0,23	^a
(-)-Epicatequina-3-galato	0,09	0,24	0,26	0,52	0,40	-0,42
(-)-Catequina-3-galato	0,52*	^a	0,51*	^a	0,78**	^a
Isoquercitrina	-0,19	^a	0,00	^a	-0,14	^a
Floretina derivado 1	0,65**	0,63*	0,36	0,19	0,25	0,64*
Flavonol 4	0,34	0,68*	0,58**	0,68*	0,51*	-0,29
Quercitrina	0,62**	-0,31	0,68**	-0,48	0,64**	0,59*
Ácido Hidroxicinâmico 4	0,00 ^a	-0,24	^a	-0,52	^a	0,42
Floridzina	0,66**	0,80**	0,48*	0,67*	0,45*	0,17
Quercetina	0,18	0,59*	0,38	0,39	0,19	0,31
Floretina	0,34	0,79**	0,52*	0,35	0,61**	0,63*
Fenólicos Totais (HPLC)	0,81**	0,85**	0,76**	0,54	0,33	0,41

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respetivo grupo. Correlações muito fortes salientadas a negrito.

Anexo III.5. Correlação de Pearson entre as diversas classes de fenólicos e o teor de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e a atividade antioxidante (FRAP e DPPH), na casca de variedades exóticas e tradicionais portuguesas.

Composto	Folin-Ciocalteu		FRAP		DPPH	
	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP	T + ReP	E - ReP
Ácido gálico	0,49*	0,61*	0,54**	0,53	0,32	0,59*
Ácido protocatecuico	0,19	0,10	0,19	-0,27	0,27	-0,05
Ácido Hidroxicinâmico 2*	0,26	0,90**	0,18	0,63*	0,26	0,83**
Flavanol (catequina) 1	0,51*	-0,27	0,31	-0,42	0,56**	-0,36
Procianidina 1	0,29	0,72**	0,34	0,50	0,27	0,67*
Ácido Hidroxibenzóico 1	0,46*	-0,66*	0,25	-0,80**	0,45*	-0,68*
(+)-Catequina	0,37	0,86**	0,51*	0,92**	0,41	0,88**
Ácido Hidroxicinâmico 3	-0,11	0,11	-0,29	0,40	0,01	0,17
Ácido clorogénico	0,41	0,86**	0,28	0,58	0,34	0,80**
Ácido cafeico	0,63**	-0,52	0,50*	-0,66*	0,59**	-0,59*
Procianidina B2	0,68**	0,84**	0,84**	0,84**	0,75**	0,88**
Antocianina 1	0,30	-0,35	0,21	-0,02	0,25	-0,28
Ácido Hidroxibenzóico 2	0,55**	0,75**	0,35	0,64*	0,52*	0,76**
(-)-Epicatequina	0,46*	0,88**	0,67**	0,78**	0,46*	0,87**
Antocianina 2	0,46*	-0,13	0,31	0,04	0,32	-0,08
Ácido p-cumárico	0,60**	0,90**	0,62**	0,63*	0,55**	0,83**
Flavanol (catequina) 3	0,71**	0,88**	0,86**	0,79**	0,75**	0,86**
Flavanol (catequina) 4	0,77**	0,91**	0,90**	0,90**	0,78**	0,87**
Flavanol (catequina) 5	0,67**	0,91**	0,85**	0,84**	0,70**	0,88**
Antocianina 3	0,00 ^a	-0,13	0,00 ^a	0,04	0,00 ^a	-0,08
Flavanol (catequina) 6	0,36	-0,34	0,42*	-0,23	0,44*	-0,35
(-)-Epicatequina-3-galato	0,34	0,11	0,28	0,40	0,27	0,17
Flavanol (catequina) 7	-0,32	0,38	-0,20	0,43	-0,36	0,34
Flavonol 1	0,39	0,40	0,22	0,30	0,25	0,45
Flavonol 2	0,61**	-0,06	0,46*	-0,06	0,47*	-0,01
Isoquercitrina	0,59**	0,23	0,47*	0,33	0,51*	0,35
Flavonol 3	0,74**	0,32	0,68**	0,32	0,62**	0,40
Floretina derivado 1	0,18	0,62*	0,17	0,31	0,25	0,50
Flavonol 4	0,73**	0,03	0,66**	0,10	0,63**	0,13
Quercitrina	0,59**	-0,12	0,60**	-0,14	0,47*	-0,09
Ácido Hidroxicinâmico 4	0,09	0,53	0,15	0,32	0,03	0,51
Floridzina	0,29	0,94**	0,21	0,78**	0,25	0,87**
Quercetina	0,41	0,61*	0,54**	0,53	0,28	0,58*
Floretina	0,55**	0,90**	0,34	0,63*	0,50*	0,83**
Fenólicos Totais (HPLC)	0,85**	0,98**	0,90**	0,83**	0,80**	0,95**

TV – todas as variedades; T + Rep – Variedades tradicionais + *Reineta Parda*; T - Rep – Variedades exóticas sem *Reineta Parda*. ** Significativo a $p < 0,01$; * Significativo a $p < 0,05$. ^a Correlação não estabelecida uma vez que o composto não foi identificado nas variedades do respetivo grupo. Correlações muito fortes salientadas a negrito.